©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Genügen die bis jetzt angewendeten Methoden, um kleine Mengen Zucker mit Bestimmtheit im Harn nachzuweisen.

Von Professor Dr. **J. Seegen.**

(Vorgelegt in der Sitzung am 20. April 1871.)

Die Möglichkeit kleine Mengen Zucker im Harne mit Bestimmtheit nachzuweisen, hat eine weittragende theoretische und praktische Bedeutung.

Es knüpft sich ein grosses wissenschaftliches Interesse an die Entscheidung der Frage, ob kleine Mengen Zucker im Harne gesunder Menschen vorkommen, ob also Zucker wie Harnsäure, wie Kreatinin u. s. f. ein Product des normalen Stoffumsatzes im thierischen Organismus ist.

Die Bejahung oder Verneinung dieser Frage hat, abgesehen davon, dass durch dieselbe unsere Einsicht in den normalen Stoffumsatz gefördert wird, eine grosse Bedeutung für die Auffassung eines wichtigen unter dem Namen *Diabetes mellitus* gekannten Krankheitsprocesses. Wir müssen, wenn Zucker im Harn als normaler Bestandtheil vorkommt, in der Zuckerharnruhr eben nur die Steigerung einer normalen Ausscheidung sehen, wir müssten aber die Zuckerausscheidung als den Ausdruck eines anomalen Stoffumsatzes ansehen, wenn der normale Harn vollständig zuckerfrei ist.

Diese verschiedene Auffassung hat einen massgebenden Einfluss auf die Anschauung über die Bedeutung der Zuckerausscheidung. Wenn Zucker in jedem gesunden Harne vorkommt, dann ist man berechtigt, von einer gefahrlosen Meliturie zu sprechen; anders ist es, wenn auch die kleinste Menge Zucker als anomales Umsetzungsproduct anzusehen ist, es erklärt sich dann, was die klinische Erfahrung lehrt, dass so häufig auch die Anwesenheit der kleinsten Zuckermengen deletäre Wirkungen übt.

Es hat ferner ein grosses Interesse feststellen zu können, ob unter bestimmten physiologischen Körperzuständen, wie z. B.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

während der Schwangerschaft, während des Säugegeschäftes Zucker im Harn auftrete, ob der Organismus unter dem Einflusse verschiedener äusserer Agentien, wie z. B. in Folge von Äther- und Chloroforminhalation Zucker ausscheide oder nicht, ob ferner manche pathologische Veränderungen, wie z. B. manche Gehirn- und Rückenmarkserkrankungen von der Ausscheidung kleiner Zuckermengen begleitet sind.

Keine der genannten Fragen ist bis jetzt endgiltig entschieden. Brücke hat bekanntlich zuerst ausgesprochen und durch Versuche zu beweisen gesucht, dass der normale Harn Zucker enthalte. Bence Jones hat diese Annahme durch weitere Versuche bestätigt. Kühne u. a. sehen den Beweis als unumstösslich hergestellt an, trotzdem andere Forscher wie Friedländer, Wiederhold, Meissner und Babo manche der Versuche durch Gegenversuche als nicht beweiskräftig dargestellt haben.

Derselbe Widerspruch besteht in Bezug auf die Annahme, dass Zucker unter manchen physiologischen Zuständen, oder unter der Einwirkung von medicamentösen Stoffen im Harne erscheine. Brücke u. A. fanden z. B. dass Säugende nicht selten eine grössere Menge Zucker im Harne ausschieden, während Leconte nach sorgfältigen Versuchen dieses Vorkommen leugnet.

Nicht selten kommt es in neuerer Zeit, in welcher von Ärzten auf Zucker im Harn sehr gefahndet wird, vor, dass auf Grundlage einer chemischen Analyse Zuckerharnruhr diagnosticirt wird, während ein anderer eben so sorgfältiger Untersucher den Zucker nicht nachweisen kann.

Diese folgenschweren Widersprüche in Bezug auf eine anscheinend so einfache Frage hatten mich veranlasst, die Methoden der Zuckerbestimmung genau zu studiren, die Grenze ihrer Genauigkeit zu prüfen und die Frage zu erörtern, ob es mit den uns zu Gebote stehenden Untersuchungsmethoden überhaupt möglich sei, kleine Mengen Zucker im Harn mit Bestimmtheit und mit Ausschluss jeder andern ähnlich reagirenden Substanz nachzuweisen. Die Arbeit ist eine ausgedehnte geworden, weil es nöthig war, alle wichtigen Methoden, und speciell alle jene welche für den Nachweis von Zucker im normalen Harn als beweisend angegeben werden, in den Kreis der Untersuchung zu ziehen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Der Physiologe und der Arzt sind bei der Lösung der Frage, ob es möglich sei kleine Mengen Zucker im Harn aufzufinden, in gleichem Masse betheiligt; der Chemiker, an welchen im gegebenen Falle Beide mit der Forderung herantreten, zu entscheiden ob in einem Harne eine minimale Quantität Zucker vorhanden sei oder nicht, muss die Grenze der Leistungsfähigkeit seiner Methoden kennen. Allen dürfte daher eine eingehende Prüfung dieser Frage nicht unwillkommen sein.

Die gebräuchlichsten Methoden, den Zucker im Harn zu entdecken, sind:

a) Die Trommer'sche Probe.
b) Die Heller-Moor'sche Kaliprobe.
c) Die Böttcher'sche Wismuthprobe.
d) Die optische Bestimmung mit Hilfe des Polarisationsapparates.
e) Die Gährungsprobe.

An diese Methoden reihen sich dann andere weitläufigere, deren Aufgabe es ist, den Zucker möglichst von den anderen Bestandtheilen zu isoliren und in einer leicht zerlegbaren Verbindung darzustellen. Die gangbarsten Methoden sind die Darstellung von:

α) Bleisacharaten.
β) Zuckerkali.

Wenn es sich um eine Methode handelt, den Zucker rasch zum Behufe einer ärztlichen Diagnose nachzuweisen, kommen nur die ersten vier Methoden in Betracht; die Gährungsprobe gibt kein rasches Resultat; die Isolirung des Zuckers erfordert Zeit und einen mit diesen Arbeiten speciell vertrauten Arbeiter. Für die dem Arzte so wichtige quantitative Zuckerbestimmung können nur die Trommer'sche und die optische Methode benützt werden. Alle anderen Methoden gestatten keine quantitativen Bestimmungen.

Ich will nun meine Erfahrungen in Bezug auf die einzelnen Methoden mittheilen:

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

1. Die werthvollste Methode für qualitative wie für quantitative Zuckerbestimmung ist die mittelst einer alkalischen Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd, welche auf der Eigenschaft des Traubenzuckers fusst, Metalloxyde, also auch Kupferoxyd in alkalischer Lösung zu reduciren.

Die Probe wird bekanntlich entweder nach Trommer's Methode ausgeführt, indem der Harn mit Ätzkali vermischt wird und der Mischung einige Tropfen einer Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd zugefügt werden. Der etwa vorhandene Zucker bildet das Lösungsmittel für das durch Zusatz von Kali ausgeschiedene Kupferoxydhydrat, oder sie wird mittelst der Fehling'schen Flüssigkeit ausgeführt, in welcher das Kupferoxyd mit Hilfe von weinsaurem Kali-Natron in Ätzkali oder Ätznatron in Lösung erhalten wird.

Ich ziehe die Fehling'sche Probe der Trommer'schen vor, weil eben jene störende Ausscheidung von Kupferoxydhydrat verhütet wird, weil ferner bei Trommer's Methode dadurch, dass dem Harn zuerst Ätzkali zugesetzt wird, leicht eine Zersetzung kleiner Zuckerquantitäten stattfinden kann, was, zumal wenn es sich um die Auffindung von kleinen Mengen handelt, von grosser Bedeutung ist. Die Fehling'sche Methode kann den weit überwiegenden Nachtheil haben, dass sie eine Reduction zeigt, auch wo kein Zucker vorhanden ist, da das Seignettesalz bei langer Berührung mit dem Kupferoxyd auch eine allmälige Reduction einleitet und diese sich beim Erhitzen steigert. Man vermeidet diese Veränderung der Probeflüssigkeit, wenn man die beiden Flüssigkeiten getrennt aufbewahrt und dieselben erst vor jedem Versuche zu gleichen Theilen mischt. Wichtig ist es ferner, dass die Seignettesalzlösung bei der Bereitung auf 100° erhitzt wird, um etwa vorhandene Schimmelsporen zu zerstören, da diese eine Reduction veranlassen.

Die Reaction ist vortrefflich, wenn eine bemerkenswerthe Menge Zucker vorhanden ist, es kommt rasch beim Erhitzen zu einer reichlichen, sehr charakteristischen Ausscheidung von Kupferoxydul oder Kupferoxydulhydrat. Anders verhält es sich dagegen, wenn die Zuckerquantität nur in geringer Menge im Harn vorhanden ist; die Reaction ist dann viel weniger charakteristisch, es kommt nicht mehr zur Ausfällung von Kupferoxydulhydrat, wiewohl eine deutliche Reaction stattfindet. Ich beobachtete eine ganze Reihe eigenthümlicher Reactionen, am häufigsten treten sie in folgender Weise auf: *a)* die Flüssigkeit trübt sich beim Kochen und wird schmutzig grün oder schmutzig gelb; *b)* die blaue Flüssigkeit ändert ihre Farbe, wird gelb oder braun und erst nach kurzem Stehen tritt eine leichte Trübung auf; es bildet sich

Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

ein Dichroismus, die Flüssigkeit ist schmutzig, gelb-grün bei auffallendem und braun bei durchfallendem Lichte; *c)* die blaue Flüssigkeit wird weingelb, bleibt aber ganz klar, durchsichtig; nur am Boden finden sich die in Flocken ausgeschiedenen Phosphate, die vom eingebetteten Kupferoxydul leicht gelb oder rothbraun gefärbt sind.

Noch weniger ist die Fehling'sche Methode zu gebrauchen, wenn es sich darum handelt, im diabetischen Harne kleine Zuckermengen quantitativ zu bestimmen. Ich habe die Erfahrung gemacht, dass eine genaue quantitative Bestimmung nicht mehr möglich ist, wenn der Zucker auf 0·5% sinkt und in manchen Harnen kann selbst 1% Zucker nicht mehr quantitativ bestimmt werden. Die Reaction erfolgt dann nämlich in folgender Weise: die Kupferlösung wird bei Zuthat von Harn erst schmutzig grün, allmälig wird die Ausscheidung gelb bis braun, aber sie bleibt in der Flüssigkeit suspendirt; diese wird selbst bei mehrstündigem Stehen nicht klar; die Grenze der Reaction ist nicht zu treffen, also die quantitative Bestimmung unmöglich.

Ich hatte diese eigenthümliche Reaction zuerst bei Diabetikern beobachtet, bei denen die Krankheit in Folge von zweckmässiger Diät oder entsprechender Behandlung gebessert war. Im Beginne der Behandlung, während der Harn z. B. 3—5% Zucker enthielt, konnte man in dem aufs 10fache mit Wasser verdünnten Harn, der also in dieser Verdünnung nur 0·3—0·5% Zucker enthielt, die Zuckermenge genau bestimmen, da sich bei Hinzufügung des Harnes und in dem Masse als man der Reactionsgrenze näher kam, der schöne rothbraune Niederschlag von Cuoxydul rasch absetzte, und die darüber stehende Flüssigkeit klar und farblos wurde. War nun die Zuckermenge auf etwa 0·3—0·5 gesunken, also quantitativ dem aufs 10fache verdünnten ursprünglichen Harn an Zuckergehalt gleich und wurde mit diesem unverdünnten Harne die Analyse ausgeführt, entstand jene früher erwähnte schmutzig gelbe Ausscheidung, die sich nicht klar absetzt.

Ich hatte diese Beobachtung zuerst in Virchow's Archiv im J. 1861 [1] mitgetheilt, und sprach damals die Vermuthung aus, es

[1] Seegen. Beiträge zur Casuistik der Melliturie.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

könnte vielleicht die Einwirkung des Heilmittels sich dadurch äussern, dass aus dem Leber-Amylum nicht mehr Zucker sondern ein dem Dextrin und Gummi verwandter Körper gebildet werde.

Lehmann[1] beobachtete einen Unterschied in der Reaction zwischen diabetischem Harne, und normalem zuckerhaltigem Harne. Der diabetische Harn gibt nach ihm, auch wenn nur wenig Zucker vorhanden ist, mit schwefelsaurem Kupferoxyd und Kali die Reaction „fast ebenso wie aus reiner Krümelzuckerlösung, während mehr normaler, zufällig zuckerhältiger Harn eine weniger auffällige Reaction gibt, letzterer lässt noch andere Stoffe mit dem Kupferoxydul fallen, welche die Farbe des Niederschlages sehr modificiren, während im eigentlichen diabetes mellitus der Harn frei von jenen Substanzen ist, welche die Reaction stören".

Kühne[2] theilt eine ähnliche Beobachtung mit, er bemerkt nämlich, dass es diabetische Harne gibt, welche nur einen Theil des Oxyduls ausfällen lassen, einen anderen Theil in Lösung erhalten; ja noch solche, wo bei 1—1½% Zucker die Oxydulfällung ausbleibt. Kühne bemerkt gleichfalls, dass die Verschiedenartigkeit der Reaction mit dem verschiedenartigen Verlaufe des Diabetes zusammenhänge; er meint, dass bei den leichten, langsam verlaufenden Fällen ein Stoff im Harne vorhanden sei, welcher das ausgeschiedene Kupferoxydul löst, während dieser Stoff in den schweren Fällen fehle.

Ich habe bei zahllosen Harnuntersuchungen bei Diabetikern niemals das Ausbleiben einer Fällung oder respective das Gelöstbleiben des gebildeten Kupferoxyduls beobachtet; stets, selbst wenn nur sehr kleine Menge Zucker vorhanden waren, war das Kupferoxyd zu Oxydulhydrat reducirt, nur blieb dieses suspendirt, trübte die Flüssigkeit und setzte sich nur sehr langsam ab. Die Verschiedenartigkeit der Reaction, die ich früher bei demselben Diabetiker je nach dem verschiedenartigen Grade der Erkrankung beobachtet hatte, fand ich bald bei verschiedenen Formen des Diabetes; es frappirte mich vorzüglich, dass bei Diabetesformen mit übermässiger Harnsecretion auch noch

---

[1] Lehmann. Lehrbuch d. physiol. Chemie. 1853. Bd. 1.

[2] Kühne. Lesebuch d. physiol. Chemie. 1868.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

mässige Mengen Zucker eine schöne Reaction gaben, rasches Ausscheiden von Cuoxydul, während bei Diabetes mit spärlicher Harnsecretion auch bedeutend grosse Mengen Zucker, selbst wenn diese 2% und darüber betrugen, jene oben beschriebene schmutzig gelbe Trübung geben, dass dagegen eine viel bessere Reaction eintritt, sowie ein solcher Harn aufs 5- oder 10fache mit Wasser verdünnt wird. Dieses Verhältniss machte mir es zuerst wahrscheinlich, dass meine frühere Vermuthung, es handle sich um verschiedene Zuckerarten oder um Zwischenglieder zwischen Glykogen und Zucker, eine irrige sei; es sei vielmehr die Verschiedenartigkeit der Reaction von dem Wassergehalte des Harnes abhängig, die Reduction sei eine vollständige, wenn der Harn künstlich mit Wasser verdünnt sei, oder wenn er wie bei hochgradigem Diabetes mit Polyurie ursprünglich sehr wasserreich sei. Die Reduction sei aber eine um so unvollständigere, je concentrirter der Harn, und je mehr Harnbestandtheile mit dem Zucker der Kupferlösung zugefügt werden.

Um die Richtigkeit dieser Anschauung zu prüfen, machte ich folgende Versuche:

A) Ich löste eine Menge Traubenzucker in 100 CC. Wasser; einige Tropfen dieser Lösung reducirten Kupferoxyd zum schönsten rothbraunen, sich klar absetzenden Kupferoxydul. 10 CC. dieser Lösung werden mit 90 CC. Wasser verdünnt; ich verbrauche 35·5 CC. dieser verdünnten Lösung zur Reduction von 5 CC. Fehling'scher Kupferoxydlösung[1], die ursprüngliche Lösung enthält 1·4% Zucker.

B) Die dem Gewichte nach gleiche Menge Traubenzucker wird in 100 Grm. Harn gelöst. Bei einer qualitativen Prüfung wird die Fehling'sche Flüssigkeit rasch verändert, es bildet sich eine gelbe, langsam absetzende Ausscheidung; nach einigen Stunden findet sich am Boden des Proberöhrchens ein rothbrauner Niederschlag, darüber eine etwas trübe, gelbe Flüssigkeit.

10 CC. dieses Zuckerharns mit 90 CC. Harn verdünnt, die quantitave Analyse versucht, die Kupferlösung trübt sich, wurde erst grün, dann gelb bis orangefarben, keine klare Ausscheidung.

10 CC. dieses Zuckerharns mit 90 CC. Wasser verdünnt, nachdem 10 CC. dieser Verdünnung zu 5 CC. Kupferlösung zugeflossen, begann

---

[1] Der Titre der Fehling'schen Kupferlösung ist so gestellt, dass zur Reduction von 5 CC. derselben 50 Mg. Zucker erforderlich sind.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

eine schöne, rothe Ausscheidung, nach Zuthat von 35·2% war die Reduction vollendet.

10 CC. dieses Zuckerharns aufs 5fache mit Harn verdünnt, gibt gleichfalls keine klare Ausfällung, die Flüssigkeit bleibt trübe, schmutzig gelb.

10 CC. aufs 2fache mit Harn verdünnt, gibt eine schöne Reduction, bei Zuthat von circa 7 CC der verdünnten Harnlösung ist die Reduction vollkommen. 10 CC. des ursprünglichen Zuckerharns reduciren gleichfalls vollständig, es bildet sich eine dichte, orangegelbe Ausfällung, die sich nicht rasch aber doch ziemlich klar absetzt, nach Zuthat von 3·5 CC. der Zuckerlösung ist die Reduction beendet.

C) 10 CC. des Zuckerharns wurden mit 90 CC. Harn verdünnt und im Wasserbade zur Trockene eingedampft. Der Rückstand in 10 CC. Wasser gelöst, die Lösung färbt die Fehling'sche Flüssigkeit braungelb, und diese wird rasch trübe, schmutzig-dunkelgelb, aber selbst nachdem die ganze Lösung hinzugefügt war, erfolgte keine ordentliche Ausscheidung.

Diese 10 CC. der wässerigen Lösung enthielten 0·14 Grm. Zucker, also 1·4% Zucker; von einer so reichen, rein wässrigen Zuckerlösung hätten wenige Tropfen zu einer guten charakteristischen Reduction genügt, während jetzt die ganze Zuckermenge kaum eine Fällung zu bewirken vermochte.

Durch diese Versuche war der Beweis geliefert, dass die Harnbestandtheile als solche die Reduction verhinderten, dass sie das reducirte Kupferoxydul in Lösung hielten und die Ausfällung des suspendirten Oxyduls verhinderten.

Winogradoff[1] und nach ihm Kühne[2] behaupten, es enthalte nur der normale Harn jenen Stoff, welcher die Ausscheidung des Kupferoxyduls verhindere, während derselbe im diabetischen Harne fehle. Kühne bezieht das Fehlen des die Ausscheidung verhindernden Stoffes nicht auf alle diabetischen Harne, er findet, dass bei langsam verlaufenden Fällen, bei denen, abgesehen vom percentischen Zuckergehalte des Harnes, die übrigen Symptome fehlen oder weniger auffällig sind, und in denen auch der Harn gefärbt bleibt, die Kupferoxydul lösenden Stoffe noch angetroffen werden, während in den ausgeprägten Fällen mit massenhafter Ausscheidung sehr blassen Harns, mit trockener Haut und häufiger Entstehung von Linsenkatarakten, wenig oder keine Spur von diesen Stoffen im Harne entleert werde. Solche Fälle müssen demnach auch mit einem anderen

---

[1] Virchow's Archiv 27. Bd.

[2] a. a. O.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

krankhaften Processe als dem der gesteigerten Zuckerbildung complicirt sein, welcher eben in der Nichtbildung oder Nichtausscheidung jener Stoffe liegt. Kühne hat richtig beobachtet, dass diabetische Harne sich verschieden gegen Kupferlösung verhalten; er hat ferner richtig beobachtet, dass es gerade die schwereren Formen sind, bei welchen der Harn eine rasche Reduction bewirkt. Unrichtig ist es, was aber dem Chemiker nicht zur Last fallen kann, wenn er Kataraktbildung als ein Symptom jener schweren Formen bezeichnet; es tritt diese nicht selten bei der milden, lange bestehenden Form auf. Nicht richtig ist ferner, wenn Kühne behauptet, dass bei diabetischem Harne, die 1—1½% enthalten, noch Oxydulfällung ausbleibt. Ich habe unzählige Analysen bei mehr als 200 Diabetikern gemacht, ich sah nie das Ausbleiben einer Fällung, wenn auch nur 0·2% Zucker vorhanden war. Bei der leichtesten Diabetesform, und bei so geringem Zuckergehalte, dass mittelst Sacharimeter in dem vollständig entfärbten Harne noch keine Ablenkung nachgewiesen werden konnte, war die Reduction des Kupferoxydes stets durch eine bemerkenswerthe Trübung nachzuweisen, und selbst, wo diese Trübung nicht augenblicklich entstand, erfolgte sie doch nach wenigen Minuten. Aber vor allem unrichtig ist die Deutung der verschiedenen Reactionen durch die An- oder Abwesenheit eines bestimmten Harnbestandtheiles und unbegründet ist die darauf basirte Theorie, dass bei schweren Diabetesformen noch eine Veränderung im Stoffumsatze vorhanden sei, dass jener normale Harnbestandtheil fehle, welcher das aus der Reduction des Kupferoxyds hervorgehende Kupferoxydul in Lösung erhalte.

Meine oben angeführten Versuche zeigten, dass auch durch normalen Harn die Ausscheidung von Kupferoxydul weniger behindert wird, wenn nur eine kleine Menge dieses Harnes zugesetzt wird, und dass diese Ausscheidung um so unvollständiger wird, je mehr Harnbestandtheile überhaupt mit dem Zucker der Kupferlösung zugeführt werden. Mit dem Ergebnisse dieser Versuche stimmt auch die Beobachtung, dass bei leichten Diabetesformen mit concentrirtem Harn die Fällung des Kupferoxyduls minder gut und rasch von Statten geht als bei schweren Fällen mit Polyurie, d. h. mit wässerigem Harne. In jenen Fällen werden mit dem Zucker beträchtliche Mengen Harnbestandtheile zugeführt, während

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

in diesen Fällen die Zufuhr von Harnbestandtheilen eine geringe ist und die Wirkung ganz dieselbe ist, als ob man Harn durch Wasser verdünnt hätte.

Die nächste Aufgabe war, zu versuchen, ob sich ermitteln liesse, welcher Harnbestandtheil die Ausfällung des Cuoxyduls beeinträchtige. Ich machte zu dem Zwecke folgende Versuche:

D) Von einem 1·4% hältigen diabetischen Harn wurden:

1. 10 CC. mit 90 CC. Wasser versetzt. SO_3 Cuoxyd wird zu schönem rothen Oxydul reducirt.
2. 10 CC. mit 90 CC. schwach saurem Harne versetzt. Die Reduction nicht vollständig, gelbe nicht klar absetzende Ausscheidung.
3. 10 CC. mit 90 CC. stark saurem Harne versetzt, gibt dieselbe Reaction,
4. 10 CC. mit 90 CC. einer 2% wässerigen Harnstofflösung verdünnt, Reduction sehr schön, Ausscheidung von rothem Oxydul.
5. 10 CC. mit 90 CC. Wasser, in welchem 2 Grm. Harnstoff und 0·05 C. Harnsäure gelöst sind, schöne Ausscheidung von rothem Oxydul.
6. 10 CC. mit 90 CC. Wasser, in welchem 2 Grm. Harnstoff, 0·05 Harnsäure und 0·05 Kreatinin gelöst sind, vollständige Reduction, das ausgeschiedene Oxydulhydrat bleibt länger suspendirt.
7. 10 CC. mit 90 CC. Wasser, in welchem 0·04 Grm. Kreatinin aufgelöst sind, bewirkt eine schöne Ausscheidung von rothem Oxydul.
8. 10 CC. mit 90 CC. Harn vermischt und durch Kochen mit Thierkohle entfärbt, bewirkt eine weit bessere Reduction als die nicht entfärbte Mischung, das gelbe Oxydulhydrat setzt sich nach kurzer Zeit klar ab, und es war möglich in diesem so vorbereiteten Harn eine quantitative Zuckerbestimmung zu machen.

   Diese Wirkung der Entfärbung war keine constante; in anderen Versuchen mit anderen Harnen blieb sie aus, der entfärbte Harn reagirte nicht anders als der ursprüngliche Harn.
9. Ammoniak verhindert nur, wenn derselbe in beträchtlicher Menge zugefügt wird, die Reduction, es wird durch einen Ammoniak in beträchtlicher Menge enthaltenden Harn die Kupferlösung entfärbt, ohne dass eine Ausscheidung erfolgt. In mässiger Menge beeinflusst Ammoniak die Reaction nicht. Ich habe zu 2 Proben Kupferlösung von dem sub 2 angeführten Zuckerharn hinzugefügt, die eine derselben mit Ammoniak versetzt und beide Proben durch einige Stunden in der Kälte stehen lassen; es fand sich in beiden am Boden eine Ausscheidung von Kupferoxydulhydrat.

   In einer anderen Probe wurde der Kupferlösung Zuckerharn mit Ammoniak versetzt zugefügt, und das Gemisch erhitzt; es entstand zuerst nur eine Gelbfärbung, nach einer Weile hatte sich Cuoxydulhydrat ausgeschieden, trotzdem die Flüssigkeit noch deutlich nach Ammoniak roch.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass jener Harnbestandtheil, welcher die Ausfällung des reducirten Oxyduls hindert, oder dasselbe theilweise in Lösung erhält, noch nicht gekannt ist. Winogradoff meinte, Kreatinin und Farbstoffe des Harns wären die Lösungsmittel für das gebildete Kupferoxydul. In Bezug auf Kreatinin habe ich diese Wirkung nicht gefunden, eine zuckerhältige Kreatininlösung wirkt wie wässerige Zuckerlösung, beide reagiren in gleicher Weise auf schwefelsaures Cuoxyd, es erfolgt eine Ausscheidung von Kupferoxydul. Nur in jener Flüssigkeit, in welcher Kreatinin mit Harnstoff und Harnsäure combinirt war, war die Ausscheidung von Kupferoxydulhydrat eine minder rasche. Dagegen scheinen die Farbstoffe entschieden die Reaction zu beeinflussen. Aber dieser Einfluss ist, soweit die Versuche zeigen, lange nicht bedeutend genug, um die so unendlich intensivere Wirkung einer wässerigen Zuckerlösung im Vergleiche zu einer gleich starken Harnzuckerlösung auf Cuoxyd zu erklären. Auch der Ammoniakgehalt des Harns, wenn ein solcher überhaupt im normalen Harne vorhanden wäre, oder sich bei Erhitzung mit Alkali aus dem Harnstoffe entwickelte, ist zu gering, um einen bemerkenswerthen Einfluss auf die Reaction haben zu können, oder die Ausfällung ganz zu verhindern. Offenbar addiren sich die kleinen, die Ausscheidung retardirenden Wirkungen der genannten Harnbestandtheile, und nebst diesen wirken wahrscheinlich noch manche Harnbestandtheile, sogenannte Extractivstoffe hemmend, Stoffe, die noch nicht in ihrer Wesenheit gekannt sind, von denen man also umsoweniger berechtigt ist zu behaupten, dass sie im diabetischen Harne fehlen. Je concentrirter ein Harn, desto grösser fällt die Wirkung aller dieser die Reaction beeinflussenden Bestandtheile aus, je verdünnter er ist, desto weniger kommt die störende Einwirkung zur Erscheinung.

Die nächste Frage war die, zu ermitteln, bis zu welcher Grenze der Verdünnung Zucker im Harne durch Fehling'sche Flüssigkeit nachzuweisen ist.

e) 1. Ich mischte von den oben erwähnten 1·4% Zuckerlösung 10 CC. mit 90 CC. Harn; es tritt rasch eine starke Reduction auf, die Kupferlösung wird beim Erhitzen trüb, schmutzig gelb, der Niederschlag setzt sich nicht klar ab.

Die Mischung enthielt 0·14% Zucker.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

2. 10 CC. derselben Zuckerlösung mit 190 CC. Harn verdünnt, die Mischung reducirt deutlich schmutzig gelbe Trübung, die Probeflüssigkeit enthält 0·07%.
3. 10 CC. der Zuckerlösung mit 290 CC. Harn verdünnt, die Culösung wird rasch gelb gefärbt, nach einer Weile wird die Flüssigkeit trüb, deutlicher Dichroismus, schmutzig grün im auffallenden, braun im durchfallenden Lichte. Die Mischung enthält 0·045% Zucker.
4. 10 CC. der Zuckerlösung mit 390 CC. Harn gemischt, die Wirkung auf Kupferlösung wie früher; rasche Gelbfärbung, nach einer Weile dichroitische Trübung, Zuckergehalt der Mischung 0·035%.

Ich verwendete stets 5CC des zuckerhältigen Harnes, diese enthalten im Versuche 4) 0·0017 Grm. Zucker, diese kleine Menge wirkt noch reducirend und zwar wird das gebildete Oxydulhydrat ausgeschieden und trübt den Harn.

Kühne[1] nimmt mit Brücke an, dass der normale Harn Zucker enthalte, er gibt den Zuckergehalt auf 0·1% an. Er frägt wie es komme, dass die Trommer'sche Probe bei dem normalen Harn im Stiche lasse, d. h. warum man den Zucker desselben nicht durch diese Probe nachweisen könne, während sie in ebenso schwach zuckerhältigem, diabetischem Harne einen positiven Aufschluss gibt. Er beantwortet die Frage dahin, man könne den Zucker auch im normalen Harne durch die Trommer'sche Probe nachweisen und zwar dadurch, dass die früher blaue oder grüne Flüssigkeit gelb werde. Der Unterschied, dass bei einem diabetischen Harne, welcher noch etwa 1 per mille Zucker enthält, eine Ausscheidung von Kupferoxydul erfolge, während sich im normalen Harne, die durch den Zucker bewirkte Reduction nur durch die Farbenveränderung manifestire, liege darin, dass der normale Harn Stoffe enthält, welche das gebildete Kupferoxydul in Lösung erhalten. Man brauche nur zu normalem Harn gewisse Mengen von diabetischem Harne oder von einer gewogenen Zuckermenge hinzuzugeben, um sich zu überzeugen, dass selbst bei einem auf $^1/_2$%, nicht selten bis zu 1% gesteigerten Zuckergehalte die Trommer'sche Probe negativ ausfalle, wenn man sie nach der Ausfällung des Kupferoxyduls beurtheilt. Es sei bei der Trommer'schen Probe zwischen dem zuckerärmsten diabetischen und dem zuckerreichsten normalen Harne diese Differenz, dass beim normalen Harne die Ausfällung des Cuoxyduls stets ausbleibe.

[1] a. a. O.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Meine Versuche bestätigen dies nicht; der mit Zuckerlösung versetzte normale Harn zeigt noch bei dem Vorhandensein von 0·03% Zucker eine Ausscheidung von Oxydulhydrat, diese ist minimal und tritt nur als Trübung zu Tage, aber ganz dasselbe ist auch mit diabetischem, nicht wässerigem Harne der Fall, wenn er kleine Mengen Zucker enthält. Würde normaler Harn auch nur 0·03% Zucker enthalten, müsste also derselbe durch Ausscheidung von Oxydulhydrat nachweisbar sein.

Es lässt sich also schon mit Rücksicht auf das Verhalten des normalen Harns zur Trommer'schen Probe sagen, dass die Annahme, der normale Harn enthalte 0·1% Zucker, ungerechtfertigt sei, und dass dieser Gehalt jedenfalls unter 0·03 sein müsse.

Unzweifelhaft ist aber auch die Gelb- oder Braunfärbung des Kupferoxyds als eine Reduction aufzufassen, da die durch Zusatz von Harn in ihrer Farbe veränderte Kupferlösung an der Luft unter Sauerstoffaufnahme wieder die blaue Farbe annimmt. Man könnte also auch die Farbenveränderung der Kupferlösung durch normalen Harn als einen Beweis für die Anwesenheit von Zucker, wenn auch in minimaler Quantität annehmen — wenn der Harn nicht auch andere Stoffe enthielte, welche die Reduction bewirken können. Unter den bekannten Harnbestandtheilen führt Kühne Kreatinin und Harnsäure als reducirende Stoffe auf.

Die reducirende Wirkung des Kreatinin konnte ich nicht nachweisen, dagegen fand ich die von vielen anderen Forschern beobachtete und speciell von Meissner und Babo[1] so genau studirte reducirende Wirkung der Harnsäure vollständig bestätigt.

Ich habe 0·5 Grm. Harnsäure in 1600 Wasser gelöst, 10 CC. dieser Flüssigkeit, welche also 0·003 Grm. Harnsäure enthielten, brachten in der Fehling'schen Flüssigkeit beim Erhitzen eine schöne Ausscheidung von rothem Oxydul an der Wand der Eprouvette hervor.

Dieselbe Reaction wurde erhalten mit Harnsäurekrystallen, die sich unmittelbar aus dem Harn ausschieden und mit einem Sedimente von Uraten.

---

[1] Zeitschrift für rationelle Medicin, 3. Reihe, 2. Band.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ich habe ferner beobachtet, dass Harne, die sehr reich an Harnsäure sind, die Lösung von Cuoxyd gerade so verändern, wie eine Harnlösung, welche eine kleine Zuckerquantität enthält, die blaue Culösung wird gelb bis gelbbraun und nach kürzerem oder längerem Stehen bildet sich eine dichroitische Trübung, zuweilen selbst eine dichtere Ausscheidung von Oxydulhydrat.

So vortrefflich also Trommer's Zuckerreaction ist, um eine grössere Menge Zucker qualitativ und quantitativ zu bestimmen, ist sie doch nicht genügend, um minimale Mengen Zucker mit unzweifelhafter Bestimmtheit anzugeben. Eine Reduction, die sich blos durch eine leichte gelbe Trübung oder durch eine dichroitische Färbung der Culösung ausspricht, kann eben so gut auf Harnsäure wie auf Zucker bezogen werden. Noch weniger ist es gestattet, die blosse Gelbfärbung ohne Ausscheidung als einen bestimmten Beweis für die Anwesenheit von Zucker anzusehen, es ist im Gegentheile höchst wahrscheinlich, dass diese fast durch jeden normalen Harn hervorgebrachte Reduction, durch die Harnsäure desselben veranlasst sei. Ich habe zwar wiederholt in Harnen mit zweifelhafter Reaction die Harnsäure durch Zusatz von Salzsäure auszuscheiden gesucht und das Filtrat mit Cuoxyd geprüft, aber auch da gibt das meist unveränderte Auftreten der schwachen Reduction keinen Beweis für Zucker; denn erstens scheidet sich nicht alle Harnsäure aus, es bleibt noch immer eine kleine Menge gelöst, endlich sind nicht alle im normalen Harne befindlichen Stoffe gekannt und können diese geringen Reductionserscheinungen auch durch sie bedingt sein.

Unendlich weit stehen die Kaliprobe und die Böttger'sche Wismuthprobe gegen die Kupferprobe zurück, und wenn es sich um die unzweifelhafte Feststellung von sehr geringen Zuckermengen handelt, kommen diese Proben nicht in Betracht.

Die Kaliprobe, bei der es sich um Variationen in derselben Farbennüance handelt, kann nur dann einen Werth haben, wenn diese Farbenveränderung eine sehr intensive ist. Minimale Zuckerquantitäten verändern die Farbe zumal in einem dunkelgefärbten Harn in so geringem Grade, dass Täuschungen leicht möglich sind. Überdies theilen viele organische Substanzen mit dem Zucker die Eigenschaft, durch Kali gebräunt zu werden, und wenn jeder normale Harn durch Erwärmen mit Kali intensiver

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

gefärbt wird, kann dies auf Rechnung irgend eines Extractivstoffes kommen.

Die Böttger'sche Wismuthprobe ist lange nicht so empfindlich wie die Cuprobe, ich habe wiederholt in Harnen, welche eine kleine Zuthat von Zucker enthielten, noch eine bemerkenswerthe Reduction des Cuoxyds gesehen, ohne dass eine charakteristische Wirkung auf Wismuthoxyd erfolgte. Die Graufärbung des Wismuthoxyds tritt in jedem Harne auf.

In jüngster Zeit hat Huizinga[1], speciell um meine Zweifel über den Zuckergehalt des normalen Harns zu widerlegen, eine von Hagar angegebene und von ihm modificirte Methode angewendet, um Zucker im Harn nachzuweisen.

Diese Methode beruht darauf, dass Wolfram- und Molybdänsäure durch Zucker wie durch viele andere organische Stoffe reducirt und ihre Lösung blau gefärbt werden, indem sich wolframsaures Wolframoxyd, resp. molybdänsaures Molybdänoxyd bildet.

Huizinga fällt den Harn durch salpetersaures Quecksilberoxyd, um durch dasselbe Farbstoff, Harnsäure und Indican, welche in gleicher Weise reduciren, zu entfernen. Das überschüssige Quecksilber wird durch Chlornatriumlösung entfernt und die vom Calomel abfiltrirte Flüssigkeit wird zur Probe verwendet und zwar wird ein Theil des so vorbereiteten Harns mit ClH angesäuert, molybdänsaures Ammoniak hinzugesetzt und die Mischung gekocht. Es scheidet sich zuerst ein gelber Niederschlag aus von phosphor-molybdänsaurem Ammoniak, aber bei längerem Kochen wird dasselbe bläulich gefärbt, und wenn der Niederschlag sich absetzt, ist die darüber stehende Flüssigkeit bläulich oder grün gefärbt. Zum Beweise, dass nicht andere als die durch salpetersaures Quecksilberoxydul gefällte Stoffe vorhanden sind, welche die Reduction bewirken, wurde Harn durch Bleizucker und ammoniakalischen Bleiessig gefällt, es war durch diese Fällungsmethode nebst den früher genannten Stoffen auch Zucker ausgeschieden. In dem durch Schwefelsäure entbleiten sauer gemachten Filtrate wurde Molybdänsäure nicht reducirt, die nebst Harnsäure Farbstoff und Indican reducirende Substanz muss also Zucker gewesen sein.

Huizinga fühlt zwar, dass dieser Schluss etwas gewagt sei, da es möglich ist, dass durch ammoniakalischen Bleiessig auch noch andere unbekannte reducirende Substanzen mit ausgefällt würden, welche durch Quecksilberlösungen nicht gefällt werden; trotzdem hält er doch seine Annahme aufrecht, dass die reducirende Substanz im normalen Harn Zucker sei. Aber dieser Schluss leidet an einem anderen wichtigen Gebrechen, nämlich daran, dass eine seiner Prämissen unhaltbar ist. Die von dem ammoniakalischen Bleiessigniederschlag abfiltrirte und entbleite Flüssig-

[1] Huizinga. Über den Nachweis von Traubenzucker im normalen Harne. Pflüger's Archiv 10. und 11. Heft. 1870.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

keit gibt nach Huizinga's Methode behandelt ebenfalls die deutliche Reaction. Eine kleine Menge des entbleiten Filtrates in der Proberöhre mit einigen Tropfen ClH versetzt, wird durch Kochen mit molybdänsaurem Ammoniak zuerst gelb, dann gelbgrün und schliesslich schön grün gefärbt.

Ich habe den Versuch mehrfach wiederholt, nachdem ich mich genau überzeugt hatte, dass die Fällung durch Ammoniak und Bleiessig eine vollständige war, und erhielt stets dasselbe Resultat. Aber diese reducirende Wirkung ist sehr begreiflich, da ich mich überzeugt hatte, dass auch Bleizucker und Bleiessig, wenn dieselben durch Schwefelsäure entbleit sind, auf Molybdänsäure reducirend wirken, und als ich schliesslich mit Essigsäure den Versuch machte, zeigte auch diese die reducirende Wirkung auf Molybdänsäure.

Die Frage, ob der durch ammoniakalischen Bleiessig ausgefällte Harn noch reducirende Substanzen enthalte, ist einfach in dieser Weise nicht zu lösen, da das überschüssige Fällungsmittel schon diese Reduction hervorbringt.

Zur Lösung der Frage über den Zuckergehalt des normalen Harns ist diese Methode vollkommen ungeeignet. Aber ebenso wenig kann sie in Concurrenz treten mit der Trommer'schen Probe, um auch nur qualitativ die Anwesenheit des Zuckers im Harn nachzuweisen, da der normale Harn des gesunden Menschen wie der stärkste diabetische Harn in gleicher Weise durch das Reactionsmittel beeinflusst wird. Es wird durch Kochen mit einigen Tropfen molybdänsauren Ammoniaks der angesäuerte normale, wie der diabetische Harn tiefdunkelblau, fast schwarz. Erst, wenn der Harn durch salpetersaures Quecksilberoxydul ausgefällt ist, das überschüssige Quecksilber durch Chlornatrium entfernt ist, zeigt das Filtrat ein verschiedenes Verhalten gegen das Reagens, je nachdem Zucker vorhanden ist oder nicht, bei beträchtlichem Zuckergehalte ist die Blaufärbung weit intensiver. Die Trommer'sche Probe bedarf, um einigermassen bemerkenswerthe Mengen Zuckers nachzuweisen, durchaus keine Vorbereitung des Harns.

An die chemischen Methoden schliesst sich die optische Methode, die darauf beruht, dass der polarisirte Lichtstrahl durch Harnzuckerlösungen nach rechts abgelenkt wird. Vortreffliche Instrumente, insbesondere die von Soleil-Ventzke angefertigten, sind dazu bestimmt, um diese Ablenkung, und aus deren Grösse die Grösse des Zuckergehaltes nachzuweisen. Für rasches

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Arbeiten ist diese Methode unübertrefflich, sie gibt bei einiger Übung in wenig gefärbtem oder durch Thierkohle entfärbtem Harne sehr verlässliche Resultate. Aber sie ist für die Erkennung kleiner Mengen Zucker ganz ungeeignet, da nach meinen Erfahrungen ein Zuckergehalt unter 0·2—0·3% nicht mehr mit dem Polarisator zu bestimmen ist.

In dem besten Ventzkischen Apparate zeigt der 1. Theilstrich der Scala in der wässerigen Lösung 0·3% Zucker an. In einer wässerigen Lösung vermag ein für die Unterscheidung der feinsten Farbennüancen sehr geübtes Auge eine Ablenkung um einige Theilstriche des Nonius zu erkennen. In einer Harnflüssigkeit, die wenn sie auch noch so gut entfärbt ist, immer einen Stich ins Gelbliche hat, werden selbst in den lichten Farben die leisesten Farbenunterschiede zwischen den beiden Hälften der Doppelplatte nicht so gut erkannt, wie in der rein farblosen Flüssigkeit und eine Ablenkung unter einem Scalagrade dürfte auch der Geübteste nicht erkennen. Will man mit dem Soleil'schen Apparate sehr kleine Harnmengen erkennen, dann muss der Harn beträchtlich eingeengt oder der Zucker durch ammoniak. Bleiessig ausgefällt werden. Ein positives Ergebniss durch den Polarisationsapparat ist jeder anderen Zuckerreaction vorzuziehen, da keine andere Substanz im Harn vorhanden ist, die die gleiche Wirkung auf den polarisirten Lichtstrahl hat, die also eine Täuschung veranlassen könnte.

Eine weitere Methode, den Zucker im Harne nachzuweisen, ist die Gährungsprobe. Zucker zerfällt bekanntlich bei der alkoholischen Gährung in Kohlensäure und Alkohol und zwar gäben nach dem Zersetzungsschema 1 Äquiv. Zucker = 180 Gewichtstheile 88 Gewth. CO_2, eine Menge, die mit Rücksicht auf anderweitige Umsetzungsproducte, die bei der Alkoholgährung auftreten, nicht ganz erhalten werden kann; man hätte also in der Gährungsmethode gleichzeitig das Mittel, den Zucker quantitativ zu bestimmen.

Die Gährungsprobe kann in dreifacher Weise ausgeführt werden:

a) Der Harn wird mit Hefe versetzt, in eine calibrirte Röhre gegeben, unter Quecksilber abgesperrt, nach vollendeter Gährung wird die entwickelte Gasmenge gemessen, dieses Mass mit Rücksicht auf Barometerdruck und Temperatur corrigirt; nebst dem entwickelten Gase hält aber auch die Gährungsflüssigkeit Gas absorbirt und dieses muss zur gefundenen Gasmenge hinzuaddirt werden.

Ich habe in meinen Versuchen den von Bunsen für wässerige Lösungen festgestellten Absorptionscoëfficienten in Rechnung gebracht, dieser beträgt für 16·6° C. 0·9692. Im reinen Alkohol steigt der Absorptionscoëfficient auf die 3fache Menge, die Grösse des Absorptionscoëfficienten für die

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

jeweiligen Gährungsflüssigkeiten ist nicht ermittelt. Ich glaubte durch die Annahme, dass die absorbirte CO_2menge mindestens gleich sei dem Flüssigkeitsvolumen, eher eine zu geringe als eine zu hohe Ziffer bei meinen Berechnungen eingesetzt zu haben.

Durch eine in die Eudiometerröhre eingeführte Kalikugel muss man sich die Überzeugung schaffen, dass das gesammte entwickelte Gas CO_2 sei. Die etwa nicht absorbirte Menge muss von der früher notirten abgezogen werden.

b) Die Kohlensäurebestimmung wird in dem von Will-Fresenius für die alkalimetrische Bestimmung angegebenen Apparate ausgeführt. Der Apparat wird vor und nach der Gährung gewogen, der Gewichtsverlust gibt die Grösse der Kohlensäureentwicklung an.

c) Die zur Gährung zu bringende Flüssigkeit wird in ein mit einem Kork- oder Kautschukpfropfen wohlverschlossenes Kölbchen gegeben, der Kork ist doppelt durchbohrt, in einer Öffnung steckt ein bis an den Boden des Kölbchens reichendes, oben zugeschmolzenes Röhrchen, die andere Öffnung trägt ein im rechten Winkel gebogenes Röhrchen, welches mit einem Chlorcalciumrohr in Verbindung gebracht wird. An das Chlorcalciumrohr schliesst sich ein Kaliapparat an; zur grösseren Vorsicht wird noch ein mit Ätzkali in Substanz gefülltes Rohr vorgelegt, und an dieses eine Chlorcalciumröhre angefügt. Der Kaliapparat sowie die Kaliröhre werden vor dem Beginne des Versuches gewogen; nachdem der Versuch 2—3 Tage gedauert hat, wird die Gährungsflüssigkeit langsam bis zum Kochen erhitzt. dann die Spitze des im Kölbchen steckenden Rohres abgekneipt und Luft durch den Apparat durchgesaugt. Der Kaliapparat und das Kalirohr werden wieder gewogen und die Gewichtszunahme gibt die Grösse der entwickelten Kohlensäure.

Unter diesen drei genannten Methoden ist die sub *b* am wenigsten zu empfehlen, denn da der gesammte ziemlich schwere Apparat gewogen werden muss, sind die Fehlergrenzen ziemlich bedeutend. Überdies hat man bei dieser Methode keine Gelegenheit sich zu überzeugen, dass der Gesammtverlust auf Rechnung der CO_2 kommt, da möglicherweise bei nicht normal verlaufender Alkoholgährung sich auch andere Gase, wie z. B. Wasserstoff, entwickelt haben könnten.

Die erste Methode gibt sehr verlässliche Resultate, wenn es erst zur Gasentwicklung gekommen ist. So lange aber eine solche nicht statt hatte, ist man ganz im Unklaren, ob der Gährungsversuch ein positives oder negatives Resultat hatte. Es kann eine bedeutende Menge Kohlensäure sich entwickelt haben, dieselbe aber in Absorption gehalten werden und dadurch nicht zur Erscheinung kommen.

Die Controlversuche, welche mit Hefewasser angestellt werden, um nachzuweisen, dass die in der Untersuchungsflüssigkeit entwickelte CO_2 nicht von der Hefe sondern aus Zucker kommt, müssen natürlich unter vollkommen gleichen Aussenverhältnissen angestellt werden, und muss die Flüssigkeitsmenge im Controlversuche, ferner Druck und Temperaturver-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

hältniss, unter welchem sie sich befinden, genau in Rechnung gezogen werden, da sonst die Resultate des Controlversuches gar nicht beweisend sind. Es könnte geschehen, dass in der Probeflüssigkeit CO_2 auftritt, während dieses in der Controlflüssigkeit nicht der Fall ist, und doch würde dieses nicht beweisen, dass in der Controlflüssigkeit keine Gasentwicklung statt hatte. Wenn nämlich beispielsweise die zur Controlprobe verwendete Flüssigkeitsmenge grösser war, oder wenn sie unter einem anderen Drucke sich befand, würde sie eine grössere Menge Gas absorbirt halten und dadurch keine Gasentwicklung zur Erscheinung kommen.

Die Methode sub 3 ist, vorausgesetzt dass die Wägungen genau sind, die verlässlichste, sie zeigt auch eine Kohlensäuremenge von wenigen Milligramm mit Präcision an, und gestattet die Herstellung eines beweisenden Controlversuches.

Um nun die beiden Methoden *a* und *c* und die Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit zu erproben, machte ich folgende Versuche:

Versuch A. In 50 CC. Wasser wurden 0·527 Grm. Zucker gelöst, diese in eine Eudiometerröhre gefüllt, 10 CC. Hefewasser hinzugesetzt, der übrige Raum der Röhre war mit Quecksilber gefüllt und wurde in eine Quecksilber enthaltende Wanne vorsichtig eingetragen. In einer 2. Eudiometerröhre wurden 50 CC. Harn, welche 0·524 Grm. Zucker gelöst enthielten, gleichfalls mit Hefe versetzt, und gleichfalls wie die frühere durch Quecksilber abgesperrt. Schon nach 5 Minuten entwickelten sich in beiden Röhren feine Gasblasen. Die grösste Gasentwicklung fällt auf die ersten 48 Stunden, von da ab wurde sie langsamer, schritt aber bis zum 8. Tage stetig fort. Da die Differenz in dem Gasstande vom 8. auf den 9. Tag nur eine sehr geringe war, schloss ich den Versuch ab, notirte den Gasstand, die Höhe der Flüssigkeitssäule, die Höhe des Quecksilberstandes in der Röhre, ferner den Barometerdruck und die Zimmertemperatur, und nachdem ich mich überzeugt hatte, dass die Kalikugel, welche ich in die Röhren brachte, das Gas bis auf ein Mininum absorbirte, berechnete ich aus den früheren Daten nach Bunsen's Tabelle die entwickelte Kohlensäuremenge. Das aus der wässerigen Flüssigkeit entwickelte und von der Flüssigkeit in Absorption gehaltene Gas betrug 239 Mgr., das aus der Harnflüssigkeit entwickelte und von dieser in Absorption gehaltene Gas betrug 231·9 Mgr.

Aus dem in der wässerigen Flüssigkeit enthaltenen Zucker hatte sich um 7% weniger Gas entwickelt als der Zuckermenge entsprach; aus der Harnflüssigkeit hatte sich um 8% weniger Gas entwickelt als der theoretisch berechneten Menge entsprach. Diese Differenz mag zum Theile daher kommen, dass der Zucker nicht absolut trocken war, zum Theil auch davon, dass die Gährung noch nicht ganz vollendet war; aber der Versuch hatte das wichtige Resultat geliefert, zu zeigen, dass in diesem Mischungs-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

verhältniss der Harn kein Hinderniss für die Gährung abgab, da dieselbe im Wasser wie im Harne gleichmässig fortschritt und percentisch nahezu dasselbe Resultat lieferte.

Ich glaubte, die Gährung dürfte das Mittel an die Hand geben, auch sehr kleine Mengen Zucker im Harn nachzuweisen, und zwar indem man die Gährung mit dem durch Abdampfen eingeengten Harn anzustellen versuchte.

Versuch B. Ich löste 0·546 Grm. Zucker in 1000 CC. Harn, dampfte bis auf 100 CC. ein; es hatte sich eine krümliche Masse ausgeschieden, Flüssigkeit und Ausscheidung wurden mit Hefewasser in den oben (sub *c*) beschriebenen Gährungsapparat gegeben.

Vor dem Beginne des Versuches wog

der Kaliapparat 48·087 Grm.
die Kaliröhre 43·622 „

Nach Ablauf von 3 Tagen wurde das Kölbchen durch längere Zeit auf Siedhitze erhalten, Luft mehreremale durchgesaugt. Der Versuch beendigt, und die Wägungen wurden vorgenommen; es wog

der Kaliapparat 48·166 Grm.
die Kaliröhre 43·630

Die Gewichtszunahme betrug also 0·087 Grm., diese geringe Quantität entspricht nicht der CO_2menge, welche aus der Gährung des Zuckers hervorgehen sollte, diese würde circa 0·270 Grm. betragen.

Die Concentration der Harnbestandtheile hat also offenbar auf die Gährung hemmend eingewirkt.

Ich führte mit einem in gleicher Weise eingeengten Harne einen Controlversuch in der Eudiometerröhre aus.

Versuch C. Es werden 0·541 Grm. Zucker in 1000 CC. Harn gelöst und diese bis auf 60 CC. eingedampft, es fand auch eine reiche Ausscheidung von Harnbestandtheilen statt. Die ganze Masse wurde mit 10 CC. Hefewasser gemischt, in eine Eudiometerröhre gegeben, es fand keine Gasentwicklung statt. Auch nach 14 Tagen hatte sich noch keine Gasblase gezeigt, es können sich also in keinem Falle mehr als 70 CC. Kohlensäure entwickelt haben, vorausgesetzt dass die salzreiche Flüssigkeit ihr eigenes Volumen Gas zu lösen im Stande ist. Aber selbst, wenn dies der Fall wäre, bliebe die entwickelte Kohlensäuremenge noch immer sehr weit gegen jene zurück, die aus dem Zucker bei vollständiger Gährung entstehen könnte.

Ich wollte nun sehen, ob es möglich sei, kleine Zuckermengen in nicht eingeengtem Harne durch Gährung nachzuweisen.

Versuch D. In 100 CC. Harn werden 0·118 Grm. Zucker gelöst, in einem Kölbchen mit Hefe gemengt, der Gährung ausgesetzt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die Gewichtszunahme des Kaliapparates und der Kaliröhre beträgt 0·040 Grm. Die CO_2, die sich aus dem Zucker bei vollständiger Gährung entwickeln müsste, würde 0·059 Grm. betragen.

Versuch E. 50 CC. Harn, mit 0·145 Grm. Zucker versetzt, mit Hefe gemischt, in eine Eudiometerröhre gefüllt, nach wenigen Minuten entwickelten sich feine Gasblasen, nach 2 Tagen hatten sich 3 CC. Gas, nach 6 Tagen 5 CC., nach 7 Tagen 6·5 CC., nach 14 Tagen 17 CC. Gas entwickelt, welches durch Berührung mit einer Kalikugel vollständig absorbirt wurde.

Versuch F. 100 CC. Harn mit 0·1 Grm. Zucker und Hefe gemischt, im Kölbchenapparate der Gährung ausgesetzt.

Die Gewichtszunahme des Kaliapparates beträgt 0·69 Mgr., also mehr als dem Gewichte der bei vollständiger Ausgährung aus dem Zucker sich entwickelnden CO_2 entspricht.

Versuch G. In 100 CC. Harn 0·07 Zucker gelöst, mit Hefe gemischt, im Kölbchen der Gährung ausgesetzt.

Die Gewichtszunahme der Kalivorlagen beträgt 0·028 Grm., aus dem Zucker konnte sich 0·035 CO_2 entwickeln.

Diese Versuche hatten anscheinend bewiesen, dass man noch sehr kleine Mengen Zucker durch Gährung entdecken kann.

Aber das Resultat des Versuches *F*, welches mehr CO_2 lieferte, als der Zuckermenge entsprach, hatte mir schon die Betrachtung nahe gelegt, dass die CO_2 aus einer anderen Quelle kommen könnte. Ich machte nun einige Gegenversuche, und zwar wollte ich zuerst sehen, ob die Hefe die Quelle der CO_2-entwickelung sein könnte.

Es ist durch die von Pasteur und Andern angestellten Versuche bekannt, dass Hefe für sich zur Gährung gelangt und aus ihrer eigenen Substanz Kohlensäure und Alkohol entwickelt.

In neuester Zeit hat Liebig[1] einige Gährungsversuche mit Hefe veröffentlicht. Schon nach 18 Stunden enthielt die der Gährung unterworfene Hefeflüssigkeit über 80% des Alkohols, welcher sich nach der theoretischen Berechnung aus der Cellulose der Hefe entwickeln konnte. Es war aber die Frage, ob die kleine Menge Hefe, welche ich in meinen Versuchen zugesetzt, auch schon eine bemerkenswerthe Kohlensäureentwicklung veranlasse.

---

[1] Liebig. Über Gährung etc. Separatabdruck aus den Annalen der Chemie. Leipzig 1870.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Versuch H. Ich mengte 10 CC. Wasser mit der zu den Einzelversuchen verwendeten Hefemenge und setzte die Flüssigkeit im Kölbchen der Gährung aus.

Die Gewichtszunahme der Kalivorlagen betrug 4 Mgr., sie war so gering, dass sie möglicherweise noch in die Fehlergrenzen fallen konnte; wahrscheinlich stammt aber die Gewichtszunahme aus der CO_2, die sich aus der geringen Hefemenge entwickelt hat.

Ich versuchte nun, wie sich Harn mit Hefe vermischt verhalte.

Versuch I. Ich mengte 100 CC. Harn mit Hefe und füllte das Gemenge in den Apparat. Die Gewichtszunahme der Kalivorlagen betrug 0·042 Grm.

Es hatten sich also aus dem Harn 0·042 Grm. CO_2 entwickelt; aus welchen Bestandtheilen des Harns diese CO_2 stammt, ist schwer zu ermitteln. Es ist am allerwahrscheinlichsten, dass sie aus dem Zerfalle des Harnstoffes hervorgegangen ist. Natürlich muss, wenn der Harnstoff die Quelle ist, sich auch Ammoniak entwickelt haben, und ich glaubte zuerst, man könnte durch vorgelegte titrirte SO_3 erfahren, ob und wie viel Ammoniak sich entwickelt hat. Aber bei näherer Betrachtung musste ich diesen Versuch aufgeben, da es sehr denkbar war, dass das Ammoniak durch die Säure der Hefe, welche sich im Kölbchen befand, gebunden worden wäre; ein negatives Resultat hätte also keine beweisende Kraft gehabt.

Für unsere Zwecke ist es vor allem von Bedeutung zu entscheiden, ob Zucker oder ob andere Bestandtheile die Quelle bilden für die aus dem normalen Harn entwickelte CO_2. Da es nicht in directer Weise nachzuweisen war, dass der Harnstoff die Quelle sei, suchte ich der Beantwortung der Frage auf indirectem Wege nahe zu kommen. Der nächste Versuch war dahin gerichtet, zu sehen, ob Harn auch ohne Hefezusatz innerhalb der für unsere Versuche verwendeten Zeit CO_2 entwickele. Wenn der Versuch ein positives Resultat gab, war damit festgestellt, dass die CO_2-Entwicklung nicht durch Gährung veranlasst sei, dass sie also nicht von Zucker stammen könne.

Wohl musste ich mir sagen, dass ein negatives Resultat dieses Versuches nichts dagegen beweise, dass die CO_2 bei unseren früheren Versuchen aus dem Zerfall des Harnstoffes stamme, denn es ist sehr gut denkbar, dass der Harnstoff des Harns in Berührung mit Hefe rascher zerfällt als ohne dieselbe.

Versuch K. In einem Kölbchen werden 100 CC. Harn mit Hefe gemischt. Die CO_2, welche sich innerhalb dreier Tage entwickelt hatte, betrug 32 Mgr.

In ein 2. Kölbchen werden gleichzeitig von demselben Harn 100 CC. ohne Hefe gegeben. Die Kaliapparate nehmen um 0·022 Grm. an Gewicht zu.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Es hatten sich also ohne jeden Hefezusatz im gleichen Zeitraume 22 Mgr. CO_2 aus dem Harn entwickelt.

Es war also damit erwiesen, dass mindestens der grösste Theil der aus normalem Harne entwickelten CO_2 aus dem Zerfalle eines Harnbestandes stamme und nicht durch Vergährung einer gährungsfähigen Substanz entstanden sei. Ob das Plus der CO_2 in dem mit Hefe versetzten Harne von Zucker herrühre oder durch rascheren Zerfall des Harnstoffes in Berührung mit Hefe stamme, blieb unentschieden.

Eine weitere Betrachtung war folgende: Wenn die CO_2 in dem mit Hefe versetzten Harne aus Zucker stammte, so würde nach der Menge der in meinen Versuchen erhaltenen Kohlensäure der Zuckergehalt des Harnes mindestens 0·1% betragen. Wenn man nun diesen Zuckergehalt von den anderen Harnbestandtheilen möglichst zu isoliren suchte und das aus dem Bleiniederschlage gewonnene Filtrat zur Gährung brachte, müsste doch das Gährungsresultat mindestens eben so gross sein, als wenn man dem normalen Harn 0·1% zusetzte und ihn in derselben Weise behandelte. Nun hatten zwar meine später mitzutheilenden wiederholten Versuche mit den aus normalem Harn erzeugten Bleiniederschlägen ein negatives Resultat der Gährungsprobe ergeben. Aber ich hatte fast immer die Probe in der Eudiometerröhre angestellt, und man konnte denken, es sei die CO_2 in der Flüssigkeit absorbirt geblieben.

Ich machte also im Kölbchen nachstehenden Versuch.

Versuch L. Es werden 500 CC. Harn mit Bleizucker gefällt, und das Filtrat mit Ammoniak und Bleiessig ausgefällt; dieser zweite Niederschlag wurde durch Oxalsäure zerlegt. Die überschüssige Oxalsäure durch kohlensauren Kalk gesättigt, das mit etwas Essigsäure versetzte Filtrat eingedampft und der Rückstand in 100 CC. Wasser gelöst, in einem Kölbchen mit Hefe versetzt. Es hatten sich innerhalb 3 Tage 18 Mgr. CO_2 entwickelt.

In einem Controlversuche wurden 500 CC. Harn mit 0·510 Grm. Zucker versetzt, und in ganz gleicher Weise wie der normale Harn mit Bleisalzen behandelt, der aus der Zerlegung des Bleiniederschlages schliesslich gewonnene Rückstand in 100 CC. Wasser gelöst, gleichfalls mit Hefe versetzt, wurde im Kölbchen der Gährung ausgesetzt. Es entwickelten sich 137 Mg. CO_2.

Wie verschieden ist dieses Resultat von dem aus dem normalen Harn erlangten. Während aus dem Bleiniederschlage

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

des mit 0·510 Zucker versetzten Harns sich 137 Mgr. CO_2 entwickelt hatten, waren aus dem Bleiniederschlage des normalen Harns nur 18 Mgr. CO_2 zum Vorscheine gekommen. Es war also auch dadurch erwiesen, dass die aus normalem Harn direct entwickelte CO_2, welche mindestens dem Gehalte von 0·1% Zucker entsprechen würde, unmöglich von Zucker stammen könne.

Ob die in unserem letzten Versuche aus dem Bleiniederschlage des normalen Harns gewonnene CO_2 von Zucker herrühren, ist nicht zu ermitteln; es ist eben so gut denkbar, dass sie aus dem Zerfalle von Harnsubstanzen stammt, die stets mit dem Blei niederfallen. Wenn diese CO_2-Menge aus Zucker stammte, würde sie in jedem Falle nur einen minimalen Zuckergehalt, etwa 7 Mgr. im 100 CC. Harn = 0·007% anzeigen.

Aus allen unseren Gährungsversuchen ergibt sich als wichtiges Resultat, dass es nicht möglich sei, mittelst der Gährungsprobe kleine Mengen Zucker im Harne unzweifelhaft mit Ausschluss aller anderen Substanzen nachzuweisen.

Es ist von anderen Forschern, wie von Bence Jones, und in neuester Zeit von Huizinga die Anwesenheit von Alkohol in der mit Hefe vermischten, durch einige Tage der Gährung ausgesetzten Harnflüssigkeit als entscheidender Beweis für die Anwesenheit von Zucker im normalen Harn angeführt worden. — Huizinga benützt Lieben's Jodoformreaction, durch die es möglich ist, auch die kleinsten Spuren von Alkohol zu erkennen, um in dem Harndestillate Alkohol nachzuweisen. Lieben[1] fand zwar, dass jeder normale Harn Spuren einer flüchtigen Substanz enthält, welche, ohne Alkohol zu sein, auch die Jodoformreaction gibt. Huizinga hat, um diesen Stoff zu entfernen, den Harn früher auf 3/4 der ursprünglichen Menge im Wasserbade eingedampft; er glaubt, dass dadurch jene flüchtige Substanz entfernt ist. Er hat dafür den Beweis nicht beigebracht und aus Lieben's Abhandlung ist nicht ersichtlich, dass in dieser Weise die flüchtige Substanz zu entfernen sei.

Aber selbst wenn Huizinga damit recht hätte, wäre es doch nicht erwiesen, dass die minimale Alkoholmenge, die durch

[1] Lieben. Alkohol geht in den Harn über. Annalen d. Chemie. 1870.

die feine Jodoformreaction nachzuweisen ist, von Zucker stamme, da doch Hefe, wie oben dargelegt, ebenfalls in CO_2 und Alkohol zerfällt und selbst aus der kleinsten Hefemenge sich minimale Mengen Alkohol entwickeln müssen. Bence Jones hat selbst mittelst der viel weniger empfindlichen Chromsäurereaction im Destillate von Hefewasser Alkohol nachgewiesen.

Es ist also auch der Alkoholnachweis nicht ausreichend, kleine Mengen Zucker unzweifelhaft zu constatiren.

Der beirrende Einfluss, welchen die bekannten, wie die noch ungekannten Harnbestandtheile auf die zur Entdeckung des Zuckers benützten Reagentien üben, bestimmte die Forscher, welche es sich zur Aufgabe stellten, kleine Mengen Zucker im Harn nachzuweisen, den Zucker zu isoliren, ihn von der störenden Einwirkung der anderen Harnbestandtheile abzulösen.

Die Isolirung wurde in zweifacher Weise versucht, die eine Art war die, den Zucker als Zuckerkali darzustellen, die andere war dahin gerichtet, ein Bleisacharat zu bilden.

ad. 1. Darstellung von Zuckerkali:

In erster Reihe kommt hier Brücke's Methode in Betracht, da sie die Basis für die von Brücke begründete Lehre bildet, dass der menschliche Harn Zucker als normalen Bestandtheil enthalte.

Brücke beschreibt[1] das Verfahren, welches er eingeschlagen hat, um das Zuckerkali direct aus dem frisch gelassenen Harn abzuscheiden, folgendermassen: Der Urin wird mit so viel starkem Weingeist versetzt, dass in der Flüssigkeit etwa ⁴⁄₅ absoluten Alkohols enthalten sind. Brücke bedient sich eines Weingeistes, der 94·3—94·4 Volumpercente Alkohol von 0·7951 Dichte bei 12° R. enthält und fügt von diesem Alkohol 54 CC. zu je 10 CC. Harn. Nachdem Harn und Alkohol gemischt und der entstandene Niederschlag sich gesenkt hat, wird filtrirt. Zu dem Filtrate wird tropfenweise von einer alkoholischen Kalilösung bis zur deutlichen Alkalescenz der Mischung hinzugefügt, das ganze wohlbedeckt im kalten Raume durch 24 Stunden stehen gelassen, die Flüssigkeit wird dann abgegossen. Boden und Wände des Glases sind mit einem krystallinischen Überzug bedeckt. Dieser wird, nachdem der Alkohol abgedünstet ist, in etwas kaltem Wasser gelöst, und zu den Zuckerproben benützt. Nach Brücke's Erfahrungen enthält der Beschlag am meisten

[1] Sitzungsberichte d. k. Akademie d. Wissenschaften, 29. Bd.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Zuckerkali, der schön büschelförmig krystallinisch ist, während grosskörnige oder drusige Massen, die sich bisweilen finden, anderen gleichzeitig ausgeschiedenen Substanzen angehören.

Ich habe, als ich die Beantwortung der Frage, ob der normale Harn wirklich Zucker enthalte, in Angriff nahm, zuerst und in der scrupulösesten Weise Brücke's Vorgang eingehalten. Die Harne der Gesunden, welche ich benützte, hatten Kupferlösung gelb gefärbt, sie waren beim Erhitzen mit Kalilösung etwas dunkler geworden, weisses Wismuthoxyd wurde selbst bei längerem Kochen nur schmutzig grau. Ich nahm von diesen Harnen je 200 CC., versetzte sie mit 1080 CC. 94%tigen Alkohols, filtrirte, fügte frisch bereitete Kalilösung hinzu, liess 24 Stunden stehen, und erhielt an Wänden und am Boden den schönsten weissen krystallinischen Beschlag. Aber dieser Beschlag, im Wasser gelöst, gab mit schwefelsaurem Cuoxyd entweder ein complet negatives Resultat, oder dasselbe wurde in drei Fällen von acht dichroitisch getrübt. In einen dieser drei Fälle hatte aber auch schon der genuine Harn diese Wirkung auf schwefelsaures Cuoxyd geübt, nachdem das Gemenge erhitzt war und einige Minuten gestanden hatte.

Trotzdem es mir also nicht gelungen war, in dem Becherbeschlage etwas zu gewinnen, was auch nur mit einiger Wahrscheinlichkeit als Zuckerkali angesprochen werden konnte, glaubte ich es so deuten zu müssen, dass meine Harne weniger Zucker enthalten als die von Brücke untersuchten, und ich suchte nun zu prüfen, bis zu welcher Grenze Brücke's Methode Zucker anzeigen könnte, indem ich eine directe Zuckerlösung nach dieser Methode behandelte.

Versuch A. Ich löste 0·250 Grm. Traubenzucker in 200 Grm. Wasser, setzte 1080 CC. 94% Alkohol hinzu, versetzte diese Lösung mit alkoholischer Kalilösung bis zur alkalischen Reaction; es bildete sich eine starke, wolkige Trübung. Nach 24 Stunden war die Flüssigkeit vollständig klar, und es hatte sich keine Ausscheidung gebildet. Die Wände und der Boden des Gefässes blieben vollkommen frei von jedem Beschlage. 10 CC. der alkoholischen Flüssigkeit wurden zur Trockene abgedampft und der Rückstand in Wasser gelöst, dieser gab mit der Fehling'schen Lösung eine schöne Reaction.

Ich fügte der Flüssigkeit noch 0·750 Grm. Zucker hinzu, setzte alkoholische Kalilösung zu, es bildete sich wieder eine starke Trübung, aber nach 24 Stunden ist diese abermals verschwunden, und keine Aus-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

scheidung erfolgt. Dasselbe negative Resultat erhielt ich trotzdem ich allmählig zehn Grammes Zucker in die Flüssigkeit eintrug.

Versuch B. Mein nächster Versuch war nun dahin gerichtet, Zuckerkali in anderer Weise darzustellen.

Ich löse eine Menge Traubenzucker in 60 CC. Wasser, füge der Lösung 940 CC. absoluten Alkohols bei; ich habe dadurch einen Litre alkoholischer Zuckerlösung von 94% Alkoholgehalt, 10 CC. der Flüssigkeit werden zur Trockene abgedampft, der Rückstand in etwas Wasser gelöst und durch Fehling'sche Lösung der Zuckergehalt bestimmt, er beträgt 3·5%.

Es wurde ferner eine Menge Ätzkali in Alkohol von 94 vol. % gelöst. und da sich etwas CO_2 KO bildete, wurde die Flüssigkeit filtrirt und der KO-Gehalt der Lösung mittelst titrirter SO_3 bestimmt, 10 CC. der Lösung enthalten 0·6465 KO.

Es wurde nun im Verhältnisse von 1 Äqu. KO auf 1 Äqu. Zucker 73 CC. der Kalilösung in 500 CC. der alkoholischen Zuckerlösung eingetragen, es entstand eine starke milchige Trübung und momentan schied sich ein voluminöser weissgelber Niederschlag an den Wänden und am Boden des Gefässes aus, welcher rasch zäh wurde und das Aussehen von blassgelbem Wachse hatte. Die darüberstehende noch etwas milchigtrübe Flüssigkeit wurde rasch abgegossen, und auf den zähen Niederschlag von neuem 94%iger Alkohol gegossen. Die decantirte Flüssigkeit wie der mit Alkohol übergossene Niederschlag wurden durch 24 Stunden an einem kühlen Orte gelassen. Die decantirte Flüssigkeit war ganz klar geworden und am Boden des Gefässes hatte sich ein sehr feiner, gelber, firnissartiger Beleg gebildet, auch nicht die Spur einer Krystallisation war vorhanden, die Wände des Gefässes waren von jeder Ausscheidung vollständig frei geblieben. Der ursprüngliche Niederschlag hatte sich gebräunt und stellte eine tief dunkelgelbe firnissartige Masse dar. Nach wenigen Tagen war diese Masse dunkelbraun geworden, wie dunkler Syrup. Die decantirte Flüssigkeit enthielt eine Spur Zucker, der mit der Ausscheidung in Berührung gewesene Alkohol war vollkommen zuckerfrei.

Das Zuckerkali scheidet sich also aus 94% Alkohol momentan aus, nicht erst nach 24 Stunden, es hat kein krystallinisches Aussehen, ist nicht farblos, sondern stellt eine gelbe, an der Luft rasch braun werdende firnissartige Masse dar.

Ich suchte nun mir über die Löslichkeitsverhältnisse des Zuckerkalis im Alkohol Aufschluss zu verschaffen.

Versuch C. Eine kleine Menge Zuckerkali wird in 100 CC. Wasser gelöst, die gleiche Menge absoluten Alkohols hinzugefügt, es scheidet sich Zuckerkali aus. Dem Filtrate werden abermals 100 CC. absoluten Alkohols hinzugefügt; wieder erfolgt eine Ausscheidung, es wird abermals filtirt,

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

wieder 100 CC. absoluten Alkohols zugesetzt, abermals eine Ausscheidung. Dieses dauert in gleicher Weise fort bis aus der ursprünglich wässerigen Lösung eine 75% Alkohollösung geworden ist. Nun entstand auf weitere Zuthat von absolutem Alkohol keine Trübung, aber die Flüssigkeit enthielt doch noch Zucker und selbst als dieselbe schon eine 89%ige Alkohollösung geworden war, enthielt sie noch immer bemerkenswerthe Zuckerspuren.

Ich erfuhr daraus, dass Zuckerkali im 89%igen Alkohol noch löslich war.

Damit war es erklärt, warum im Versuche *A* kein Zuckerkali entstehen konnte, trotzdem die Flüssigkeit sich unmittelbar auf Zusatz von alkoholischer Kalilösung getrübt hatte. Das gebildete Zuckerkali hatte sich in der circa 84% Alkohol enthaltenden Mischung wieder gelöst.

Versuch D. Um die Richtigkeit dieser Anschauung zu bestätigen, nahm ich 20 CC. einer wässerigen Zuckerlösung, setzte 800 CC. 94% Alkohol hinzu, fügte alkoholische Kalilösung bei, es entstand eine Trübung, nach 24 Stunden war die Flüssigkeit klar, am Boden des Gefässes hatte sich ein schöner firnissartiger Anflug gebildet, der die eclatanteste Zuckerreaction hat, die decantirte Flüssigkeit enthielt keine Spur Zucker. Die Flüssigkeit enthielt 90·1% Alkohol.

Ich mischte ferner 5 CC. jener Zuckerlösung *A* mit 95 CC. 94percentigen Alkohols, fügte alkoholische Kalilösung bei, nach 24 Stunden war ein zarter, gelber Anflug am Boden des Gefässes, der Zuckerreaction gab, aber auch die decantirte Flüssigkeit enthielt noch Zucker. Die Flüssigkeit enthielt 89·3% Alkohol.

Die Grenze der Löslichkeit des Zuckerkali in Alkohol liegt also ungefähr bei 90%.

Unsere Versuche lehren, dass Zuckerkali sich rasch ausscheidet, dass derselbe kein krystallinisches Gefüge hat, oder gar Krystallformen zeigt, dass er erst in 90%tigem Alkohol unlöslich ist. Es ist also die von Brücke vorgeschlagene Methode nicht entsprechend, um Zuckerkali zu erlangen, zumal dann nicht, wenn der Zucker nur in sehr geringer Menge vorhanden ist. Die krystallinische Ausscheidung, die Brücke aus normalem Harn erhalten hat, war also offenbar eine Verbindung von Kali mit anderen Harnbestandtheilen, und die mässige reducirende Wirkung dieser Verbindung, die zuweilen auftritt, ist wahrscheinlich, wie dies bereits von anderen Untersuchern hervorgehoben wurde, auf Harnsäure zu beziehen. Ich selbst habe darüber keine Erfahrung, da die krystallinischen Stoffe, die ich aus den von mir nach Brücke's Methode untersuchten Harnen erhielt, niemals eine reducirende Eigenschaft zeigten.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Eine zweite Methode Zuckerkali aus Harn darzustellen, besteht darin, dass der Harn im Wasserbade eingedampft, der Rückstand durch Alkohol extrahirt und diesem Extracte alkoholische Kalilösung zugefügt wird.

Man hat bei dieser Methode zu berücksichtigen, dass einerseits Zucker in absolutem Alkohol fast gar nicht und in sehr hochgradigem Alkohol nur schwer löslich ist; dass andererseits aus einem zu verdünnten Alkohol Zuckerkali sich nicht ausscheidet. Wird ein hochpercentiger oder nahezu absoluter Alkohol zur Extraction verwendet, gelingt diese nur sehr unvollständig, wird andererseits die Extraction mit wasserreichem Weingeist ausgeführt und dann Zuckerkali ausgefällt, tritt dasselbe rasch in Lösung, und es wird wieder nur ein Bruchtheil des Zuckers erhalten.

Die Ausführung der Methode kann in doppelter Weise geschehen, entweder man verdampft den Harn zur Trockene, übergiesst ihn mit Alkohol von 93—94% und extrahirt, oder man verdampft ihn zur Syrupconsistenz, verreibt mit Bimsstein, und da also noch Harnwasser mit vorhanden ist, extrahirt man mit so viel absolutem Alkohol, dass bei Hinzurechnung des Harnwassers sich ein Alkoholgehalt von circa 93—94% herausstellt. Nach der ersten Weise bildet sich bei Hinzufügung des Alkohols eine guttaperchaartige Masse, die schwer zu extrahiren ist.

Diese Darstellung des Zuckerkalis ist sehr zweckmässig, sie genügt aber gleichfalls nicht, um sehr kleine Mengen Zucker mit Bestimmtheit nachzuweisen, und die Ursache liegt darin, weil eben nur ein Bruchtheil des ursprünglichen Zuckergehaltes in dem Zuckerkali erscheint. Folgende Versuche werden dies bestätigen:

A. 500 CC. eines diabetischen Harnes, welcher 2% Zucker enthielt, wurden filtrirt, durch ClH die Harnsäure ausgeschieden, zur Syrupconsistenz eingedampft, und mit absolutem Alkohol durch 24 Stunden extrahirt.

Der ausgewaschene, wachsartig zähe, braungelbe Rückstand wurde in sehr wenig Wasser gelöst, wieder absoluter Alkohol hinzugefügt, mit dem Pistill verrieben, und wieder durch 24 Stunden das Extract stehengelassen. Der zähe Rückstand wurde noch ein drittes Mal im Wasser gelöst und abermals mit absolutem Alkohol extrahirt. Alle alkoholischen Extracte mit frisch bereiteter alkoholischer Kalilösung versetzt. Nach 24 Stunden hatte sich eine Masse Krystalle an den Wänden des Gefässes gebildet, am Boden des Gefässes ein reiches, schönes, firnissartiges Sediment, der gesammte Rückstand wurde in 100 CC. Wasser gelöst und in dieser braunen Flüssigkeit der Zuckergehalt bestimmt. Der Zuckergehalt betrug 3·5 Grm.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Statt der im ursprünglichen Harn gelösten 10 Grm. hatte ich nur 3·5 Grm., also nur 35% erhalten.

Durch wirkungslosen Znsatz von Kalilösung hatte ich mich früher überzeugt, dass aller als Zuckerkali fällbarer Zucker ausgeschieden war. Ich destillirte den nicht zur Zuckerbestimmung verwendeten Alkohol ab, der zurückgebliebene dunkle Rückstand verfärbte Fehling'sche Lösung, es bildete sich keine Ausscheidung. Der von den Extractionen zurückgebliebene Rückstand reducirte Cuoxydlösung zu Oxydulhydrat und entwickelte mit Hefe CO_2. Es war also offenbar Zucker zurückgeblieben, der durch dreimalige Extraction nicht in Lösung gelangte.

In einem zweiten Versuche löste ich 1 Grm. Zucker in 100 CC. Harn, dampfte auf circa 5 CC. Flüssigkeit ein, verrieb den Rückstand mit Bimsstein, extrahirte mit kochendem Alkohol von 94%, decantirte, fügte von Neuem kochenden Alkohol hinzu, und wiederholte diese Procedur 4—5mal. Die gesammten Extracte wurden mit alkoholischer Kalilösung versetzt, es entsteht eine reiche Fällung, firnissartiger Beschlag am Boden, krystallinischer Anflug an der Wand. Dieser Rückstand in 100 CC. Wasser gelöst, enthält 0·3% Zucker.

Die Darstellung von Zuckerkali eignet sich also nicht zur quantitativen Zuckerbestimmung.

Ich versuche es nun, die Grenze festzustellen, bis zu welcher nach dieser Methode noch Zucker qualitativ mit Bestimmtheit erkannt werden kann. Ich mache Zuckerharnlösungen von verschiedener Stärke, aus welchen Zuckerkali dargestellt werden soll. In Harnzuckerlösungen von 0·1—0·08% bringt die firnissartige Ausscheidung noch die schönste Reduction auf Cuoxyd hervor. Bei einem Zuckergehalte mit 0·08% wird die Reaction schon viel unentschiedener und bei einem Zuckergehalte von 0·03—0·04% bringt der als Zuckerkali anzusprechende Rückstand, in Wasser gelöst, in der Culösung jene wiederholt erwähnte dichroitische Trübung hervor und ist also nicht mehr als unzweifelhaftes Zuckerreagens zu verwerthen.

Die zweite Art, den Zucker zu isoliren, ist die, ein Bleisacharat darzustellen. Der Harn wird zuerst durch neutrales essigsaures Blei gefällt, das Filtrat wird durch basisch essigsaures Blei gefällt abermals filtrirt und dem Filtrate Ammoniak zugesetzt. Der jetzt gebildete Niederschlag enthält das Bleisacharat.

Brücke[1] gibt an, dass auch der durch Bleiessig entstehende Niederschlag Zucker enthalte. Da aber in einer wässerigen Traubenzuckerlösung Bleiessig keinen Niederschlag hervorbringt,

[1] Sitzungsberichte d. k. Akademie d. Wissensch. 39 Bd. S. 10.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

so meint Brücke, es existire im Harne eine Substanz, durch welche die Fällung des Zuckers durch Bleiessig vermittelt wird. Ich werde auf diese Brücke'sche Annahme und auf die dafür beigebrachten Beweise später zurückkommen.

Die den Zucker enthaltenden Niederschläge werden durch SH zerlegt und im eingedampften Filtrate der Zucker nachgewiesen. Brücke zerlegte die Niederschläge durch Oxalsäure, es bildet sich oxalsaures Blei, das Filtrat wurde durch kohlensauren Kalk gesättigt, mit Essigsäure angesäuert und im Wasserbade zur Trockene eingedampft, dieser Rückstand in etwas Wasser gelöst und in diesem der Zucker direct nachgewiesen; oder es wurde das Filtrat nur auf ein kleineres Volumen eingeengt, mit der fünffachen Menge Alkohol gemengt und dem Filtrate alkoholische Kalilösung zugefügt und Zuckerkali dargestellt, und dieses, nachdem es durch Oxalsäure zerlegt war, zu dem Zuckernachweise verwendet. Die letzte, sehr complicirte Methode hat Brücke angewendet, um den Zucker in dem durch Bleiessig entstandenen Niederschlage durch den Gährungsprocess nachzuweisen. In dem durch Ammoniak entstandenen Niederschlag war dieser complicirte Weg nicht nöthig, es gelang Brücke aus dem Filtratrückstande direct die Kohlensäureentwicklung nachzuweisen.

Eine dritte, von Lehmann angegebene Art ist die, dass man aus dem Alkoholextract Zuckerkali darstellt, dieses in Wasser löst, mit Essigsäure neutralisirt, mit überschüssigem Bleizucker fällt, das gebildete Bleisacharat durch SH zerlegt, das Filtrat eindampft und in dem Rückstande den Zucker nachweist.

Ich habe alle diese variirten Methoden wiederholt versucht, um Zucker aus normalem Harn darzustellen und habe nie einen Erfolg erzielt.

Ich will einige meiner Versuche mittheilen:

A) Harn des Herrn M.. Verdacht auf Zucker nach manchen vorhandenen Symptomen.

Der ursprüngliche Harn färbt die Kupferlösung rasch gelb, keine Ausscheidung.

Von diesem Harne wurden 2400 CC. im Wasserbade zur Syrupconsistenz eingedampft, mit Bimsstein verrieben, mit 93% Alkohol durch 4 Stunden unter häufigem Umschütteln extrahirt. Das Filtrat mit alkoholischer Ätzkalilösung bis zur deutlichen alkalischen Reaction behandelt, es bildet sich eine wolkige Trübung. Nach 24stündigem Stehen in der Kälte wird der Alkohol abgegossen, an den Wänden des Gefässes ein krystallinischer Beschlag, am Boden eine graue schmierige Masse mit einzelnen dunkelbraunen Partien; der krystallinische Beleg in Wasser gelöst, verfärbt Kupferlösung wie der normale Harn, keine Ausscheidung.

Der ganze Rückstand im Wasser gelöst, mit Essigsäure neutralisirt mit überschüssigem Bleizucker gefällt, der gebildete Niederschlag durch

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Schwefelwasserstoff zerlegt, das blassgelbe Filtrat zum Trockenen eingedampft, der trockene, etwas gelbliche Rückstand in einer kleinen Menge Wasser gelöst, bringt in Fehling'scher Flüssigkeit eine schwache dichroitische Trübung hervor.

Zwei andere Harne gesunder Menschen wurden in gleicher Weise behandelt und zwar das einemal 1800 CC. und das anderemal 1500 CC., die Lösung des vermeintlichen Kalisacharates hatte auf Culösung keine Einwirkung. Erst wenn die Lösung mit Essigsäure angesäuert, mit Bleizucker gefällt, der Niederschlag mit SH zerlegt, das Filtrat eingedampft, und der Rückstand gelöst war, brachte diese Lösung in Culösung eine schwache dichroitische Trübung hervor.

B) Der Harn eines Individuums, das früher an Diabetes mellit. gelitten, und bei welchem durch entsprechendes Regime und Behandlung der Zucker auf ein Minimum gesunken war; die Fehling'sche Flüssigkeit wird durch den Harn gelb gefärbt; die ausgeschiedenen Phosphate bekommen nach kurzer Zeit einen röthlichen Anflug von ausgeschiedenem Oxydul. Mit KO schöne Bräunung, NO_5 Wismuthoxyd wird nicht schwarz.

500 CC. dieses Harns werden mit ClH versetzt, es bildet sich eine reiche Ausscheidung von Harnsäure, die ausgeschiedene Harnsäure in etwas KO gelöst, die wässerige Lösung reducirt Cuoxyd zu schönem rothen Oxydul, die Lösung mit normalem Harn versetzt, bewirkt in Fehling'scher Lösung eine gelbe, nicht klar absetzende Ausscheidung. Die von der Harnsäureausscheidung abfiltrirte Flüssigkeit wird zur Syrupconsistenz eingedampft, mit Alkohol extrahirt, dem dunklen Extracte alkoholische Kalilösung hinzugefügt; es scheidet sich eine gelbe, firnissartige Masse aus, welche Cuoxyd reducirt. Die ganze Masse in 100 CC. Wasser gelöst, zur Reduction von 5 CC. Fehling'scher Lösung verbrauche ich 45 CC. der Lösung, in dem ausgeschiedenen Zuckerkali ist also 0·111 Grm. Zucker erhalten. Die mit Alkohol ausgezogene Masse reducirt noch Cuoxyd; ich löse diesen Rückstand in 15 CC. Wasser, füge 180 CC. absoluten Alkohol hinzu, nach häufigem Schütteln und 24stündigem Stehen abermals alkoholische Kalilösung hinzugefügt, es bildet sich ein reicher Niederschlag, aber nach 24 Stunden findet sich am Boden des Gefässes nur ein schwacher Anflug, welcher Cuoxyd zu orangegelbem Oxydul reducirt, aus dem eingedampften Alkohol scheiden sich Krystalle aus, welche gelöst eine eigenthümliche Reaction veranlassen, die Culösung wird dunkelbraun gefärbt, es scheiden sich röthliche Flocken aus. Der Rückstand des 2. alkoholischen Extractes bringt auf Cuoxyd eine eigenthümliche Wirkung hervor; es bildet sich zuerst eine orangegelbe Trübung, nach einigen Minuten eine schwarze Fällung wie von Cuoxyd.

1000 CC. desselben Harnes wurden mit neutralem essigsaurem Blei gefällt, das Filtrat mit basisch essigsaurem Blei gefällt, das Filtrat zuletzt mit Ammoniak gefällt, alle Niederschläge waren enorm gross. Die beiden letzten Niederschläge werden durch SH zerlegt; es war nöthig, durch fast 24 Stunden Gas einzuleiten bis die Niederschläge zerlegt waren, die

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

klaren, etwas ins Grünliche spielenden Filtrate wurden getrennt eingedampft. Das Filtrat vom basischen essigsauren Blei schwärzt sich beim Eindampfen, gab ganz eingedampft eine schwarze wie verkohlte Masse. Ein kleiner Bruchtheil dieser Masse in Wasser gelöst, gibt eine torfbraune Flüssigkeit, welche reichlich reducirt.

Das Filtrat des durch Ammoniak gewonnenen Niederschlages zu einer syrupartigen Consistenz eingedampft, reducirt Cuoxyd zu einer schmutzig gelben, trüben Flüssigkeit.

Beide eingedampfte Filtrate werden mit Alkohol extrahirt, dem Extracte alkoholische Kalilösung zugesetzt; die Ausscheidung aus dem Alkoholextracte der amoniakalischen Flüssigkeit wird in 100 CC. Wasser gelöst, ich verbrauche die ganze Quantität um 5 CC. Fehling'scher Flüssigkeit zu reduciren, sie enthält also circa 0·05 Zucker. Die Ausscheidung aus dem Alkoholextracte des basisch essigsauren Bleioxyds wird ebenfalls in 100 CC. Wasser gelöst, ich verbrauche 25 CC. zu Reduction von 5 CC. Fehling'scher Flüssigkeit, 100 CC. enthalten also 0·2 reducirende Substanz.

Es enthielt also der durch basisch essigsaures Blei gefällte Niederschlag ein grössere Menge reducirender Substanz als der durch Ammoniak gefällte Niederschlag.

Der mit Alkohol extrahirte Rückstand des ammon. Filtrates enthält noch reducirende Substanz, ich löse dieselbe in 10 CC. aq., füge 110 CC. absoluten Alkohols hinzu, das Extract wird mit alkoholischer Kalilösung versetzt, es bildet sich eine deutliche Ausscheidung, welche aber nach 24 Stunden wieder gelöst ist. Der eingedampfte Alkohol lässt einen Rückstand zurück, welcher Cuoxyd schön zu Oxydul reducirt. Der Extractrückstand reducirt gleichfalls, es bildet sich eine orangegelbe Trübung, und bald folgt eine schwarze Ausfällung.

C) 6000 CC. Harn eines gesunden Individuums wurden mit Bleizucker, Bleiessig und Ammoniak gefällt. Es wurden ungeheuere Mengen gesättigter Bleilösungen verbraucht, ehe eine vollständige Ausfällung erfolgt war, die Niederschläge waren sehr copiös. Die Bleiessig- und Ammoniakniederschläge wurden gut gewaschen mit Wasser angerührt und SH bis zur völligen Zerlegung eingeführt. Das klare Filtrat des Bleiessigniederschlages bräunt sich rasch beim Eindampfen; da es sehr sauer reagirte, wurde die freie Säure durch verdünnte Natronlösung bis zur neutralen Reaction abgestumpft. Bei der weiteren Eindampfung wurde das Filtrat immer dunkler und an den Wänden der Schale bildete sich eine bräunliche Masse. Das eingeengte Filtrat wurde auf $1/4$ Liter verdünnt. Das ammon. Filtrat wurde ebenfalls im Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedampft, um allen SH zu entfernen und dann wieder auf $1/4$ Liter durch Wasser verdünnt.

Beide eingeengte Filtrate reducirten Culösung zu einer schmutzig gelben trüben Flüssigkeit, das Filtrat des essigsauren Bleis brachte eine reichlichere Reduction hervor. Kaliprobe konnte nicht angestellt werden, da die Filtrate zu dunkel waren. Salpetersaures Wismuthoxyd wurde selbst

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

bei längerem Kochen nicht geschwärzt, es wurde nur etwas schmutzig verfärbt.

Eine Prüfung im Polarisationsapparate ist ganz unmöglich, da die Flüssigkeiten zu dunkel sind, und trotz Digeriren und Kochen mit Blutkohle nicht hell werden.

Ich versuchte nun, ob die Flüssigkeit zur Gährung gebracht werden könnte.

200 CC. jedes Filtrates werden je in eine Eudiometerröhre gegeben mit Hefe versetzt und unter Quecksilberverschluss durch 3 Tage bei einer Temperatur von 15° R. stehen gelassen. Es entwickelte sich auch nicht Eine Gasblase.

Um zu constatiren, ob etwa der Salzreichthum in den beiden die Filtrate enthaltenden Röhren die Gährung hinderte, wurde nach 3 Tagen in jeder der Röhren eine wässerige Lösung von Traubenzucker eingeleitet. In der das ammoniakalische Filtrat enthaltenden Röhre entwickelt sich eine reiche Gährung, in der das Filtrat des essigsauren Bleiniederschlages enthaltenden Röhre trat nur eine schwache Gährung auf.

D) 6000 CC. Harn desselben Individuums wurden mit Bleizucker, Bleiessig und Ammoniak gefällt. Die zwei letzteren Niederschläge wurden durch gesättigte Oxalsäurelösung zerlegt, es hat sich, wenn die Zerlegung zu Ende ist, der ganze Niederschlag in eine schneeweisse Masse verwandelt, während die darüber stehende Flüssigkeit lichtbraun gefärbt wird. Die Filtrate werden mit kohlensaurem Kalk bis zur schwach alkalischen Reaction gesättigt, filtrirt. Die Filtrate schwach mit Essigsäure angesäuert und zur Trockene eingedampft. Die Rückstände wurden im Wasser gelöst und zwar wurde der Rückstand vom basisch essigsauren Bleiniederschlage in 200 CC. Wasser, der vom Ammoniakniederschlag in 50 CC. Wasser gelöst. Alle Filtrate brachten auf Cuoxydlösung eine schwache Wirkung hervor, sie wurde dichroitisch trübe, energischer war die Wirkung des Filtrates aus dem Bleiniederschlage. Ein kleiner Theil des Filtrates wurde mit Thierkohle entfärbt und die fast wasserhelle Flüssigkeit im Sacharimeter geprüft, es fand nicht die kleinste Ablenkung statt. Von dem Filtrate des Bleiessigniederschlages wurde die Hälfte circa 100 CC. direct in die Eudiometerröhre (*a*) gefüllt, mit Hefe versetzt, in die Quecksilberwanne gebracht; die zweite Hälfte wurde eingeengt, dann soviel absoluten Alkohols hinzugefügt, dass sich eine alkoholische Lösung von 94% Alkohol gebildet hatte. Der Alkohol nach 24 Stunden filtrirt, alkoholische Kalilösung hinzugefügt; es bildet sich eine reiche Fällung, die sich nicht klar absetzt, erst nach 2mal 24 Stunden ist die überstehende Flüssigkeitsschicht klar, der Rest wolkig, ich filtrire, auf dem Filter bleibt eine gallertartige Masse, diese wurde wieder durch etwas verdünnte Oxalsäurelösung zerlegt, das Filtrat mit CO_2 CaO versetzt, die vierfache Menge absoluten Alkohols hinzugefügt, filtrirt, das Filtrat schwach mit Essigsäure angesäuert und zur Trockene verdampft, und der Rückstand in wenig CC. Wasser gelöst. Ein Theil dieser Lösung bringt in der Fehling'schen Lösung eine schwache Reduction

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

hervor, während sich rasch ein weisser Niederschlag, wahrscheinlich weinsaurer Kalk ausscheidet, der Rest der Lösung in ein enges Eudiometerrohr gefüllt, mit Hefe versetzt und in die Quecksilberwanne gebracht. In beiden Röhren hat sich nach 3 Tagen nicht Eine Gasblase entwickelt. Ich füge beiden Röhren 200 Mg. Traubenzucker in Lösung bei, in der Röhre *a* erfolgt keine Gasbildung, in der Röhre *b* tritt rasch eine Gasentwicklung ein und nach wenigen Tagen haben sich 15 CC. Gas gebildet. Ich füge zur Röhre *a* noch 300 Mg. Zucker, es erfolgt noch keine Gasentwicklung, erst bei weiterer Hinzufügung von 500 Mg. Zucker tritt Gasentwicklung auf. Das Filtrat des ammon. Niederschlages auf circa 50 CC. gebracht, wird gleichfalls in eine Eudiometerröhre zur Gährungsprobe gefüllt, beim Eintragen in die Quecksilberwanne steigen zuerst einige Gasblasen auf, die offenbar der Röhre angehaftet hatten, diese Gasmenge vermehrt sich innerhalb 3 Tage nicht um ein Atom. Nach Hinzufügung von 300 Mg. Zucker tritt rasch Gasentwicklung auf.

Der vorher dargelegte Versuch konnte für die Abwesenheit von Zucker darum nicht ganz beweisend sein, weil die in die Eudiometerröhren gefüllten Flüssigkeitsmengen bedeutend waren, und man annehmen konnte, die gebildete Kohlensäure sei von der Flüssigkeit absorbirt worden. Freilich widersprach dieser Annahme der Umstand, dass bei Zusatz von 200 Mg. Zucker keine Kohlensäureentwicklung stattfand, und diese erst auftrat als mehr Zucker zugefügt war. Es bewies dies, dass die Flüssigkeit frei von CO_2 geblieben war, und dass sie darum die aus den 200 Mg. Zucker entwicklte CO_2 in Lösung hielt, dass auch, nachdem 500 Mg. Zucker zugefügt waren, was bei vollständiger Ausgährung einer CO_2-Menge von circa 125 CC. entspricht, keine CO_2-Entwicklung sichtbar war, und dass erst, nachdem 1 Grm Zucker = 250 CC. CO_2 zugefügt war, Gasblasen in beträchtlicher Menge zum Vorscheine kamen. Der Rückstand aus den ammoniakalischen Filtraten betrug nur 50 CC. und darum konnte bei einer Zuthat von 300 CC. Zucker schon CO_2 zum Vorschein kommen.

E) u. *F)* Ich stellte noch weitere zwei Versuche mit je 8000 CC. normalem Harn an; in dem ersteren habe ich wie früher genau nach Brücke's Vorschrift den Niederschlag von basisch-essigsaurem Blei von dem durch Ammoniak getrennt, die Niederschläge wurden durch Oxalsäure zerlegt, durch kohlensauren Kalk neutralisirt. Aus dem Filtratrückstande des basisch-essigsauren Bleiniederschlags wird ein alkoholisches Extract gemacht, alkoholische Kalilösung hinzugesetzt; der gebildete Niederschlag des vermeintlichen Zuckerkali ist eine gallertartige Masse, die nicht ganz im Wasser löslich ist: ich zerlege wieder durch verdünnte Oxalsäure, sättige mit kohlensaurem Kalke, filtrire, verdampfe nahezu zur Trockene, extrahire mit 93% Alkohol, dampfe ab, es bleibt ein geringer, nicht ganz löslicher Rückstand; der unlösliche Theil besteht aus den vom Alkohol aufgenommenen Kalksalzen, ich gebe das Ganze auf 15 CC. verdünnt mit Hefe in eine Eudiometerröhre, wie bei den meisten Versuchen finden sich beim Sturze der Röhre einige feine Gasblasen in der Kuppe der Röhre, die aber auch nach 8 Tagen nicht vermehrt sind.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Das ammoniakalische Filtrat wurde auf 50 CC. gebracht, 10 CC. auf 100 verdünnt, werden zur Reductionsprobe verwendet, die Fehling'sche Flüssigkeit wurde gelb gefärbt, es schied sich ein reicher, weisser Niederschlag aus, offenbar von den im Filtrate vorhandenen Kalksalzen herrührend, aber dieser färbte sich bei stärkerem Erwärmen vom ausgeschiedenen Kupferoxydulhydrat gelb.

Einen Theil des verdünnten Filtrates, welches noch durch Blutkohle farblos gemacht wurde, untersuchte ich im Polarisationsapparate, es erfolgte nicht die leiseste Ablenkung.

40 CC. mit Hefewasser in eine Eudiometerröhre (*a*) gegeben, durch Quecksilber abgesperrt.

In eine zweite Röhre (*b*) 40 CC. Wasser mit Hefe.

In eine dritte Röhre (*c*) 40 CC. Wasser mit 0·750 Traubenzucker und die gleiche Menge Hefewasser.

In dem Rohre 3 hatten sich schon nach 24 Stunden 40 CC. Gas entwickelt und die Gasmenge war nach 48 Stunden auf 50 CC. gestiegen. In den beiden anderen Röhren fand keine Gasentwicklung statt. Ich gebe nach 3 Tagen in die Röhre (*a*) 0·5 Grm. Zucker, schon nach einer halben Stunde beginnt die schönste Gasentwicklung und nach 24 Stunden haben sich bereits 35 CC. Gas entwickelt. Die Flüssigkeit als solche hatte also die Gährung nicht gehindert.

In einem letzten Versuche abermals mit 8000 CC. Harn habe ich das Filtrat von dem mit Bleizucker gefällten Harn mit Ammoniak versetzt und basisch-essigsaures Blei zugesetzt und den so gebildeten Niederschlag zur Hälfte mit Oxalsäure, zur Hälfte mit SH zerlegt. Das Filtrat von dem durch Oxalsäure zerlegten Bleiniederschlage habe ich durch kohlensauren Kalk neutralisirt, dem sehr sauren Filtrate vom Schwefelbleiniederschlag habe ich Ätzbaryt hinzugefügt, um die durch Säuren veranlasste Schwärzung und mögliche Zersetzung des Zuckers zu verhüten. Es hatte sich ein Barytsalz gebildet. Das Filtrat schwärzte sich beim Eindampfen nicht, der Rückstand war wie jener des aus der Zerlegung durch Oxalsäure gewonnenen Filtrates schön dunkel, syrupartig. Beide Rückstände der eingedampften Filtrate werden auf 100 CC. verdünnt.

Die Kupferprobe gab in beiden Filtraten ein positives Resultat, es bildete sich zuerst ein weisser, rasch braun werdender Niederschlag.

Die Polarisationsprobe gab ein negatives Resultat. Die Gährungsprobe gleichfalls, mit Ausnahme einiger anfangs aufgestiegener Gasblasen, vollständig negativ. Die wenigen Blasen an der Kuppe haben sich durchaus nicht vermehrt.

Ich musste nun zunächst sehen, bis zu welcher Grenze die Gährungsprobe in dem nach dieser Methode dargestellten Zucker nachzuweisen im Stande ist.

G) Ich versetzte 1500 CC. Harn mit 1 Grm. Zucker, fällte den Harn mit Bleizucker; dem Filtrate wurde Ammoniak bis zur stark alkalischen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Reaction und dann Bleiessig zugesetzt, der ausgewaschene Niederschlag durch Oxalsäurelösung zerlegt, das Filtrat durch CO_2CaO gesättigt bis zur schwach alkalischen Reaction, einige Tropfen Essigsäure zugesetzt, zur Trockene eingedampft. Der Rückstand in 100 Wasser gelöst.

Von dieser Lösung wurden 20 CC. mit Thierkohle möglichst entfärbt, aufs frühere Volumen gebracht und zu den Reactionen verwendet. In der Culösung entsteht ein reicher, weisser Niederschlag, der bei weiterem Erhitzen sich von ausgeschiedenem Oxydulhydrat braun färbt, eine quantitative Analyse nicht gut durchführbar.

In dem Polarisationsapparate deutliche Ablenkung, der Zuckergehalt beträgt 0·7%.

50 CC. in einer Eudiometerröhre mit Hefe versetzt, schon nach einer Stunde eine beträchtliche Menge feiner Gasblasen, an der Kuppe des Rohres, nach 2 Tagen 9 CC. freies Gas, nach 3 Tagen 12·5 CC., nach 4 Tagen 20 CC. Der Versuch wird dann abgebrochen. Der Rest jener entfärbten 20 CC. Lösung wurde in einer Eprouvette mit Hefe versetzt und in die Quecksilberwanne gestürzt, schon nach einer halben Stunde entwickelten sich Gasblasen, und nach zwei Tagen haben sich über 2 CC. Gas entwickelt.

H) 1000 CC. Harn mit 10 CC. diabetischem Harn, welche 0·5 Grm. Zucker enthalten, versetzt. Die Mischung reducirt Culösung in geringer Menge, es bildete sich eine dichroitische Trübung, am Boden die ausgeschiedenen Phosphate mit schwach röthlichem Anfluge. Mit Bleizucker gefällt, filtrirt, durch Ammoniak und Bleiessig gefällt, Niederschlag durch Oxalsäure zerlegt, filtrirt, durch CO_2CaO neutralisirt, eingedampft. Rückstand in 80 CC. Wasser gelöst.

40 CC. mit Kohle entfärbt, durch Waschwasser auf 100 CC. verdünnt, zur Reduction von 5 CC. Fehling'scher Lösung verbrauche ich 16 CC., diese 100 CC. enthalten demnach 300 Mgr. reducirender Substanz oder die Gesammtmenge enthielte 600 Mgr., wenn die gesammte reducirende Substanz Zucker wäre oder in gleichem Verhältnisse wie Zucker reducirte.

Der polarisirte Lichtstrahl wird abgelenkt, die durch den Polarisationsapparat nachweisbare Zuckermenge beträgt 0·340 Grm. Es werden ferner 40 CC. mit Hefe versetzt, schon nach 1 Stunde feine Gasblasen an der Kuppe des Endiometerrohres. Nach 2 Tagen $2^1/_2$ CC. Gas, nach 3 Tagen 8 CC., nach 4 Tagen 10 CC., nach 5 Tagen 18 CC., nach 6 Tagen 21 CC., nach 7 Tagen 26 CC., nach 10 Tagen 32, nach 13 Tagen 34·5 CC. Gleichzeitig hatte sich in dem Controlrohre, in welchem 40 CC. Wasser mit der gleichen Hefemenge sich befand, vom 4. Tage ab etwas Gas gezeigt, und dasselbe war nach 13 Tagen auf 1·5 CC. gestiegen.

Ich hatte nun durch die beiden letzten Versuche den Beweis erhalten, dass Zucker, wenn auch nur in kleinerer Menge dem Harn zugefügt, bis auf 0·05% sowohl durch Gährung wie durch

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Sacharimeter nachzuweisen ist, wenn der Zucker als Bleiverbindung ausgefällt wird. Es ergab sich ferner, dass sowohl durch Gährung wie mittelst des Polarisationsapparates nahezu $^2/_3$ Theile des ursprünglichen Zuckergehaltes gefunden werden.

Diesen positiven Resultaten entgegen standen mir die aus einer grossen Zahl von Versuchen sich ergebenden negativen Resultate bei normalem Harn. In dem aus 8000 CC. normalen Harn erhaltenen Bleiniederschlage konnte ich weder durch Sacharimeter noch durch Gährung Zucker nachweisen, und ich war also zu der Annahme berechtigt, dass in dieser Harnmenge auch nicht 0·05% Zucker vorhanden gewesen sein könnte, da ich diese sonst in eclatanter Weise nachzuweisen im Stande gewesen wäre. Noch anders ausgedrückt, könnte ich sagen: ich war im Stande, 0·5 Grm. Zucker, welche in einer bedeutenden Harnmenge, in 1000 CC. Harn, vertheilt waren, durch Bleiniederschläge zu $^2/_3$ wiederzugewinnen und durch Gährung und Sacharimeter nachzuweisen. Das vollständig negative Resultat, welches ich mit den aus 8000 CC. Harn gewonnenen Bleiniederschlägen erzielte, beweist, dass in diesem Harne nicht 0·5 Grm. gelöst waren: der normale Harn kann also nicht 0·006% Zucker enthalten.

Ich musste mich nun fragen: Wie verhalten sich die von mir gefundenen Resultate zu den von Brücke gefundenen? Ich musste mir sagen, dass alle negativen Ergebnisse meiner Untersuchungen in Bezug auf den Zuckergehalt des normalen Harns werthlos sein müssen, einem einzigen, unbezweifelten, positiven Ergebnisse gegenüber. Es war also zunächst meine Aufgabe Brücke's Versuche, aus welchen auf eine Anwesenheit von Zucker im normalen Harn geschlossen wurde, aufmerksam zu studiren. Brücke hat die wesentlichen Resultate seiner Arbeit in zwei Abhandlungen niedergelegt. Die erste ist die bereits erwähnte Abhandlung: „Über das Vorkommen des Zuckers im Urin gesunder Menschen". In dieser hat Brücke die Methode angegeben, wie der Zucker aus dem gesunden Harn als Zuckerkali zu isoliren sei. Ich habe an einer früheren Stelle nachgewiesen, dass Zuckerkali selbst aus einem an Zucker sehr reichen Harn nicht in dieser Weise darzustellen sei, da das gebildete

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Zuckerkali sich in einer Flüssigkeit, die nicht mindestens 90% Alkohol enthält, wieder löst.

Brücke selbst scheint die Verlässlichkeit seines Zuckerkalis angezweifelt zu haben, denn in einer anderen Arbeit[1] gibt er an, dass er in dem Harn von Wöchnerinnen zuweilen nicht im Stande gewesen sei, Zuckerkali zu erhalten, obwohl diese Harne nach den Reactionen Zucker enthalten haben müssen; er kommt zu der Hypothese, dass die Ausscheidung des Zuckers als Zuckerkali zuweilen durch irgend eine andere Substanz behindert sein könnte, in der es nicht geeignet ist, im Weingeist schwer lösliches Zuckerkali zu bilden. Hier zuerst wird nun die zweite Isolirungsmethode angegeben, nämlich die, den Zucker als Bleisacharat zu fällen, dieses direct in Kali zu lösen, oder durch Oxalsäure zu zersetzen. Die Beweise für die Anwesenheit von Zucker in dem aus Zersetzung des vermeintlichen Bleisacharates entstandenen Filtrate waren die bekannten Reactionen nach Trommer, Heller und Böttger. Ich habe mit den Filtraten, welche aus der Zerlegung des Bleiessig- und Ammoniakniederschlages entstanden waren, stets eine reducirende Wirkung auf Cuoxyd nachweisen können. Ich habe meist aus den Bleiniederschlägen des normalen Harns viel eclatantere Reductionserscheinungen bekommen, als sie Brücke bei dem Harn von Wöchnerinnen angibt; aber wie bereits früher erwähnt, sind die Reductionserscheinungen für Zuckererkennung nicht massgebend, da speciell Harnsäure dieselbe Wirkung äussert. Die Böttger'sche und Heller'sche sind beweisend, wenn sie eine eclatante Reaction geben, aber hundertfache Versuche haben mich überzeugt, dass diese zwei Reactionen weit hinter der Schärfe der Trommer'schen Probe zurückstehen, und wo diese eine etwas zweifelhaftere Reaction gibt, sind die anderen Reactionen noch viel unbestimmter und unverlässlicher.

Es war sehr naheliegend, die constant auftretende Reductionseinwirkung der Bleiniederschläge auf Harnsäure zu beziehen, es war mir dies um so wahrscheinlicher, als ich einmal zufällig

---

[1] Über Glykosurie bei Wöchnerinnen. Wiener medicinische Wochenschrift.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Gelegenheit hatte, zu beobachten, wie in einem Harne, welchen ich durch Bleizucker ausgefällt hatte, sich am Boden und an den Wänden des Gefässes reichliche Harnsäurekrystalle ausgeschieden hatten.

Um aber Gewissheit darüber zu erlangen, mit welchem der Bleiniederschläge die Harnsäure zur Ausscheidung kommt, machte ich folgenden Versuch:

1) Ich versuchte Harnsäure, circa 1 Grm. in einer wässerigen Lösung von phosphorsaurem Natron in der Wärme zu lösen; es löste sich nur eine Portion der Harnsäure, etwa die Hälfte, die Lösung wurde durch Wasser auf 1500 CC. verdünnt, um ungefähr das Mengenverhältniss wie zwischen Harnsäure und Harn darzustellen. Es wurde nun der Lösung Bleizucker zugesetzt, der gebildete Niederschlag gut gewaschen, und das Filtrat durch Bleiessig und durch Ammoniak gefällt. Die 3 gebildeten Niederschläge wurden durch SH zerlegt, die Filtrate einzeln im Wasserbade zur Trockene eingedampft und mit den gebildeten Rückständen die Murexidprobe angestellt. Der Rückstand von dem durch Zerlegung des essigsauren Bleiniederschlages gewonnenen Filtrates gibt die schönste Murexidprobe, der Rückstand aus dem Ammoniakniederschlage gibt die Murexidprobe nur schwach, während sie mit dem Rückstande aus dem durch Bleizucker gewonnenen Niederschlage vollständig negativ ausfällt; der grösste Theil der Harnsäure ist also durch Bleiessig ausgefällt worden, ein geringer Theil wurde noch durch Ammoniak gefällt, während durch Bleizucker keine Harnsäure ausgefällt wurde. Damit stimmen auch Brücke's Erfahrungen[1], dass der Bleiessigniederschlag oft grössere Mengen reducirender Substanz enthielt als der durch Ammoniak bewirkte, dass er in diesen Niederschlägen viel grössere Mengen dieser reducirenden Substanzen enthielt als er sie sonst im Harne gesunder Menschen fand, dass er sie ferner in diesen Niederschlägen auch in solchen Harnen fand, bei welchen in den Gegenversuchen mit Kali keine reducirende Substanz gefunden werden konnte.

Die Thatsachen haben wir ganz übereinstimmend gefunden, nur die Deutung ist eine verschiedene; Brücke sucht in dieser reducirenden Substanz Zucker, und von dieser Deutung ausgehend, hat er die Ansicht ausgesprochen, man dürfe Harn vor Aufstellung der Kupferprobe nicht mit Bleiessig ausfällen, da mit demselben ein grösserer oder geringerer Bruchtheil des Harnzuckers niedergeschlagen werde.

---

[1] Wiener med. Wochenschr. a. a. O.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Wie natürlich, musste es Brücke klar sein, dass die Reductionserscheinungen nicht genügen, um die Substanz, welche in der aus den Bleiniederschlägen gewonnenen Lösung diese Reductionen veranlasst, unzweifelhaft als Zucker anzusehen. Selbst wenn die Harnsäure durch Zusatz von Salzsäure zum Harn ausgeschieden wäre, würden die Reductionserscheinungen nicht für die Anwesenheit von Zucker beweisend sein, da erstens in dem Harnwasser noch immer etwas Harnsäure gelöst ist, da ferner auch andere Harnbestandtheile die Reduction veranlassen könnten, wie dies erst neulich Thudichum für eine von ihm im Harn entdeckte Substanz nachgewiesen hat. Um die reducirende Substanz als Zucker mit Bestimmtheit ansprechen zu können, bedarf es weiterer Beweise und diese Beweise hat Brücke zu liefern gesucht in seiner zweiten Abhandlung[1], welche die Überschrift trägt: „Darf man Urin, in welchem der Zucker quantitativ bestimmt werden soll, vorher mit Bleiessig ausfällen?"

Hier zum ersten Male treten uns die Gährungsversuche entgegen. Der eine Versuch wurde angestellt mit diab. Harne, dieser wurde erst mit Bleizucker ausgefällt, und dann das Filtrat mit Bleiessig niedergeschlagen; das so erhaltene Präcipitat wurde zuerst auf dem Filtrum mit destillirtem Wasser gewaschen, bis die abtropfende Flüssigkeit trüb erschien, es wurde vielfach abgetrocknet, in einer starken Schraubenpresse abgepresst, mit Oxalsäure zerlegt, filtrirt, das Filtrat durch feinvertheilten CO_2CaO gesättigt, das Filtrat in eine Schrötter'sche Gaséprouvette gefüllt, mit Hefe vermischt, es begann alsbald eine lebhafte Gährung, während eine andere Gaséprouvette mit derselben Hefe und destillirtem Wasser gefüllt keinerlei Gährungserscheinungen bemerken liess.

Vorausgesetzt, dass die Controlröhre eben so viel Flüssigkeit enthielt als die Schrötter'sche Gaséprouvette, dass bei den Flüssigkeiten gleichviel Hefe zugesetzt war, ist die Entwicklung von CO_2 aus dem Filtrate des zersetzten Bleiniederschlages ein unzweifelhafter Beweis, dass dieser Niederschlag Zucker enthalte. Aber ist damit auch bewiesen, dass der Zucker des diab. Harnes durch den Bleiessig gefällt wurde? Brücke erwähnt selbst an einer anderen Stelle derselben Abhandlung, dass der Niederschlag von basisch essigsaurem Blei sich mit Wasser, auch mit ausgekochtem nur unvollständig auswaschen lasse, indem die

[1] Sitzungsb. d. math. naturw. Classe d. Akad. der Wissensch. 39. Bd.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Flüssigkeit nach einiger Zeit trüb durchs Filter geht. Er hat nun seinen für den Gährungsversuch bestimmten Niederschlag mit destillirtem Wasser so lange gewaschen bis die abtropfende Flüssigkeit trübe durchging, also nach seinen eigenen Angaben nicht vollständig ausgewaschen. Der Niederschlag wurde wiederholt durch Fliesspapier getrocknet und in einer starken Schraubenpresse trocken gepresst; aber es wurde nicht der Beweis geliefert, dass durch die Abpressung eine vollständige Trennung des Bleiniederschlages von den im Filtrate enthaltenen Bestandtheilen, also auch vom Zucker erzielt wurde. Die Voraussetzung, dass auch nur minimale Zuckermengen dem Niederschlage mechanisch anhafteten, würde die Gährungserscheinungen vollkommen erklären.

Der zweite Versuch Brücke's wurde mit dem Harn eines gesunden Menschen angestellt, die Bleiessigniederschläge wurden wieder ganz in derselben Weise behandelt wie die früheren; aber da gelang es nie, mit dem Filtrate des durch Oxalsäure zerlegten und durch kohlensauren Kalk neutralisirten Bleiessigniederschlages eine Gährung hervorzubringen. Es wurde vielmehr aus diesem eingeengten Filtrate zuerst nach Brücke's Methode ein Kalisacharat dargestellt und zwar indem mit dem auf 200 CC. eingeengten Filtrate 1080 CC. eines Weingeistes, der 94 Vol. % enthielt, gemischt wurden und diesem Gemenge weingeistiges Zuckerkali zugefügt wurde. Das ausgeschiedene Zuckerkali wurde wieder durch Oxalsäure zerlegt, mit feinvertheiltem kohlensaurem Kalke gesättigt, dem Filtrate das vierfache an Alkohol hinzugefügt, filtrirt, das Filtrat zur Trockene eingedampft, der Rückstand in etwas Wasser gelöst und in eine Eprouvette von 4 CC. Inhalt mit Hefe versetzt, es bildete sich an der Kuppe ein feiner Schaum als Gährungsergebniss.

Dass dieses minimale Gährungsresultat nicht von Zucker herrühren könne, ist dadurch klar, weil nach obiger Methode unmöglich Zuckerkali dargestellt werden konnte. Das mit Weingeist versetzte Filtrat enthielt nämlich nur 89% Alkohol und in diesem hätte sich das gebildete Kalisacharat, wenn ein solches entstanden wäre, gelöst.

Mit der vollen beweisenden Kraft dieses Gährungsversuches fällt auch die wichtigste Stütze für die Annahme, dass ein Theil des im Harn gelösten Zuckers mit dem Bleiessig ausgefällt werde. Um diese Annahme aufrecht zu erhalten, die im Widerspruche steht mit der Erfahrung, dass Trauben- oder Harnzucker aus wässeriger Lösung durch Bleiessig nicht gefällt wird, muss Brücke

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

annehmen[1], es sei im Harne eine Substanz vorhanden, welche die Fällung des Zuckers durch Bleiessig vermittelt, und um es plausibel zu machen, warum dieser Zucker durch Bleiessig gefällt und durch Kali nicht gefällt wird, muss er wieder eine andere Substanz supponiren, „welche die Ausscheidung als Zuckerkali behindere". Und endlich musste es doch auffällig sein, warum der im Bleiessigniederschlage enthaltene Zucker sich nicht direct durch Gährung nachweisen lasse. Alle diese Widersprüche finden ihre natürliche Lösung, wenn die reducirenden Eigenschaften des Bleiessigniederschlages, und nur diese sind unzweifelhaft, auf Rechnung einer anderen mitausgefällten Substanz, und zwar auf die Harnsäure bezogen werden.

Der wichtigste von Brücke mitgetheilte Gährungsversuch ist der, welcher mit dem durch Ammoniak aus gesundem Harn gewonnenen Niederschlage angestellt wurde.

Brücke hatte gegen 10 Liter Filtrate von Bleiessigniederschlägen gesammelt, mit Ammoniak gefällt, die gesammelten und getrockneten Ammoniakniederschläge wurden durch Oxalsäure zerlegt, das Filtrat durch kohlensauren Kalk gesättigt und der Rückstand in wenig Wasser aufgelöst; ein Theil dieser Lösung wurde zu den Reductionsproben verwendet. Es wurden 2½ CC. mit Hefe vermischt, in einem kleinen Reagensglase über Quecksilber abgesperrt, nach einigen Stunden hatte die Gährung bereits begonnen und nach 24 Stunden hatten sich 417 Kubikmillimeter Gas entwickelt, von denen nur 3 Kubikmillimeter nicht durch Kali absorbirt wurden.

Leider hat uns Brücke nicht angegeben, von wie viel Harn die obenerwähnten 10 Liter Filtrat stammten; er hat uns auch nicht gesagt, wie gross der Theil des zur Lösung gebrachten Rückstandes war, der zur Gährung verwendet wurde. Wenn wir einen ungefähren Calcül machen und annehmen, dass von jenen 10 Liter Filtrat etwa ⅕ auf Waschwasser zu rechnen ist, betrug die ursprünglich benützte Harnmenge 8 Liter. Wenn die aus dem ammoniakalischen Niederschlage schliesslich entstandene Lösung etwa in gleiche Theile getheilt und die eine Hälfte für die Reactionen und die andere für die Gährung verwendet worden wäre, hiesse dies, es sei der Rückstand aus dem ammoniakalischen Niederschlage von 4 Liter Harn zur Gährungsprobe benützt worden.

---

[1] Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. 39. Bd.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die gebildete Gasmenge betrug circa ½ CC., die Gährungsflüssigkeit enthielt auch 2½ CC. Gas absorbirt, die Summe der gebildeten Kohlensäure beträgt 3 CC. = 5·7 Mgr. Diese Menge Kohlensäure entspricht 11·6 Mgr. Zucker. 4000 Grm. Harn enthielten 11·6 Mgr. Zucker, 1000 Grm. enthielten 0·0029 Grm. = 0·00029% Zucker. Angenommen, Brücke hätte nur den vierten Theil des von mir supponirten Harns zum Gährungsversuche verwendet und jene 11·6 Mgr. Zucker wären in 1000 CC. Harn enthalten, wäre das gleich einem Percentgehalt von 0·001. Der normale Mensch würde im Tage 15 Mgr. Zucker ausscheiden. Wie weit ist es von diesem Ergebnisse zu Kühne's[1] Behauptung, der normale menschliche Harn enthalte 0·1% Zucker.

Es ist nicht möglich, den directen Beweis herzustellen, dass die gebildete CO_2 nicht vom Zucker stamme. Aber ebenso gut denkbar ist es, dass die dem Prüfungsobjecte zugesetzte Hefe die Quelle dieser CO_2 sei. Die kleine Hefemenge, die ich bei meinen Gährungsversuchen zusetzte, lieferte einige Milligramme CO_2, es brauchte der Probeflüssigkeit nur eine minimale Menge mehr Hefe zugesetzt worden zu sein als der Controlflüssigkeit und es würde als Resultat sich dort ½ CC. Gas entwickelt haben, während das Gas in der Controlflüssigkeit gerade ausgereicht hätte, um von der Flüssigkeit absorbirt zu werden.

Dasselbe verschiedene Resultat käme in den beiden der Gährung unterworfenen Flüssigkeiten zu Stande, wenn die Flüssigkeitsmenge in der Controlröhre auch nur um ½ CC. mehr betragen hätte als in der Proberöhre. Es wäre dann selbst für den Fall, dass der Hefezusatz in beiden Röhren bis auf 1 Mgr. gleich war, das aus dieser Hefe gebildete Gas von der Controlflüssigkeit in Absorption gehalten worden, während in der Probeflüssigkeit diese letzte ½ CC. betragende Gasmenge nicht gelöst bleiben konnte und daher als solches zur Erscheinung kam.

Die Entwicklung von CO_2 aus einigen normalen Harnbestandtheilen, wie z. B. aus dem Harnstoffe ist gleichfalls bekannt.

Es müsste nachgewiesen sein, dass in den Bleifällungen nicht etwas Harnstoff mit niedergefallen ist.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Unzweifelhaft ist es, dass andere, verwandte Harnbestandtheile, wie z. B. Harnsäure, in den Bleiniederschlägen enthalten sind, und es müsste gleichfalls nachgewiesen werden, ob nicht die CO_2-Entwicklung die im normalen Harne ohne Hefezusatz auftritt, aus dem Zerfall dieser Körper mit hervorgehen könne. Die Anwesenheit eines neuen Stoffes kann nur dann als erwiesen angesehen werden, wenn die Reactionen, die seine Anwesenheit constatiren sollen, nicht auch durch andere unzweifelhaft oder möglicherweise vorhandene Substanzen hervorgebracht werden. Die Gährungsprobe wurde als ein solches *experimentum crucis*, welches für die Anwesenheit von Zucker zeugen sollte, angeführt. Aber die Gährung hat keine höhere Beweiskraft als die Reductionsproben; sie ist entscheidend, wo es sich um grössere Mengen Zucker handelt, wo also die gelieferte CO_2-Menge so gross ist, dass sie in dieser Menge aus keiner anderen, in der Gährungsflüssigkeit befindlichen Quelle stammen könnte. Aber für minimale Mengen ist sie fast weniger beweisend als die Reductionsproben, da es zu ihrer Ausführung nöthig ist, dass der Untersuchungsflüssigkeit eine Substanz, die Hefe, zugesetzt ist, die unzweifelhaft kleine Mengen Kohlensäure liefert.

Das Ergebniss des Brücke'schen Gährungsversuches ist also nicht im Stande, die Anwesenheit auch nur einer nimimalen Zuckerspur als normalen Harnbestandtheil unzweifelhaft festzustellen.

Bence Jones[1] hat Brücke's Methoden zur Darstellung von Zuckerverbindungen aus normalem Harn einer Untersuchung unterzogen. Er verwirft die von Brücke angegebene Methode der Darstellung von Zuckerkali, weil nach seinen Untersuchungen Zuckerkali nur in einem nahezu absoluten Alkohol unlöslich ist. Wenn der Alkoholgehalt nur circa 80% beträgt, bleibe der grösste Theil des Zuckerkalis in Lösung, und es sei darum nicht möglich, einen kleinen Zuckergehalt in dieser Weise zu ermitteln. Diese Erfahrung stimmt ganz mit der meinigen, nur dass ich durch directe Versuche bewiesen habe, dass nach Brücke's

---

[1] Bence Jones. On Sugar in the urine. Quarterly journal of the chemical Society of London. 1862.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Methode auch ein reicher Zuckergehalt einer Flüssigkeit nicht nachgewiesen werden könne.

Die Fällung von Zucker als Zuckerblei hält Bence Jones für die vorzüglichste Methode der Zuckerdarstellung und glaubt, dass man durch dieselbe $^1/_7$ Gran = 0·01 Grm. Zucker im Harne nachweisen könne.

Als Beweis für diese Annahme gilt ihm folgender Versuch: Er hat $^1/_7$ Gran Zucker in 200 CC. Harn gelöst, Bleiniederschläge gemacht, den Ammoniakniederschlag durch Oxalsäure zerlegt, das Filtrat brachte in Culösung einen schmutzig gelben Niederschlag hervor.

Bence Jones hätte, wie Brücke und ich es gefunden haben, dieselbe reducirende Wirkung mit dem Ammoniakniederschlage des normalen Harns hervorbringen können; es ist also durchaus nicht bewiesen, dass die von ihm gefundene Reduction von der zugeführten kleinen Zuckermenge stamme. Die Reduction, zumal wenn sie mit unentschiedener Farbe auftritt, kann eben auch von anderen Harnbestandtheilen herrühren, und man kann mit ihrer Hilfe ebenso wenig die Anwesenheit von Zucker im normalen Harn beweisen, als man im Stande ist, sie als feines Reagens für minimale Mengen zugeführten Zuckers zu benützen.

Bence Jones hat, nachdem er in der angeführten Weise constatirt hatte, dass in dem ammoniakalischen Bleiniederschlage die kleinsten im Harne gelösten Zuckermengen niederfallen, die Anwesenheit des Zuckers im normalen Harn durch die mit dem Filtrate des Bleiniederschlages angestellten Gährungsproben zu constatiren gesucht. Bence Jones hat in zwei Proben ziffermässig die bei der Gährung entwickelte Kohlensäuremenge constatirt. Zu dem einen Versuche waren 10.000 CC., zu dem andern Versuche waren 14.000 CC. Harn verwendet worden. Der erste Versuch lieferte 12 Mgr. Kohlensäure, der 2. Versuch gab 14 Mgr. CO_2.

Wenn diese Kohlensäure aus Zucker stammte, würde das Ergebniss dieser Versuche dahin lauten: 100 CC. Harn enthalten circa 2 Mgr. Zucker, der normale Harn enthält 0·0002% Zucker!

Bence Jones berechnet den CO_2-Gehalt aus dem Gewichtsverlust seines Apparates, eine Methode, die an Fehlern sehr reich ist, da die CO_2 nicht direct nachgewiesen werden kann, und der Apparat auch so schwer und so gross ist, dass leicht vor und nach dem Versuche die Wägung um einige Milligramm verschieden ausfallen kann, ohne dass diese Differenz gerade von entwickelter Kohlensäure herrühren muss. Bence Jones hat mit

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

seiner Hefe direct Versuche gemacht, und auch aus dieser allein, wenn sie mit Wasser gemischt wurde, CO_2-Entwicklung nachgewiesen. Er zieht auch immer das nach seinen Versuchen auf die verwendete Hefemenge entfallende Gas von der Gesammtmenge des gefundenen Gases ab. Dieser Vorgang ist sehr correct, nur ist dabei vergessen, dass Hefe kein gleichmässiges Gemenge ist, und dass zwei dem Gewichte nach ganz gleiche Hefenmengen doch eine um einige Milligramme verschiedene Kohlensäuremenge liefern können; es ist ferner vergessen, dass es denkbar sei, dass die Selbstvergährung der Hefe im Wasser in anderer Weise von Statten gehen könne, als in einem anderen Medium; es ist ferner vor allem nicht berücksichtigt, dass die Harnbestandtheile, welche in den Bleiniederschlägen enthalten waren und welche in alle Lösungen mit übergehen, auch die Quelle einer kleinen Kohlensäureentwicklung sein könnten.

Bence Jones hat durch Chromsäure die Anwesenheit von Alkohol in dem Destillate der zur Gährung verwendeten Probeflüssigkeit nachgewiesen. Er erwähnt selbst, dass auch in der von dem Hefewasser abdestillirten Flüssigkeit Alkohol nachgewiesen werden konnte, nur habe das Destillat aus der Probeflüssigkeit eine stärkere Reduction der Chromsäure gezeigt, „reduced the chromic acid much more decidedly“. Dieses Plus der Reaction kann wohl für die Entscheidung einer so wichtigen Frage nicht massgebend sein, zumal in solange nicht bewiesen werden kann, dass dieselbe Gewichtsmenge Hefe stets und ohne Rücksicht auf das Flüssigkeitsmedium, in welchem sie suspendirt ist, die gleiche Kohlensäure- und Alkoholmenge liefere.

Das Resultat meiner Untersuchungen lässt sich in Folgendem zusammenfassen:

1. Es fehlt uns an einem verlässlichen Reagens, um sehr kleine in Harn gelöste Zuckermengen unzweifelhaft und mit Ausschluss jeder analog wirkenden Substanz festzustellen.
2. Es sind darum alle Annahmen über das Vorkommen kleiner Zuckermengen im Harn in manchen physiologischen wie in manchen pathologischen Zuständen, als nicht unzweifelhaft erwiesen anzusehen.

3. Der normale Harn enthält keinen Zucker in der Menge, in welcher solcher unzweifelhaft nachgewiesen werden kann.
4. Der normale Harn enthält kleine Mengen reducirender Substanzen. Dass ein Theil derselben Zucker sei, ist mit unseren heutigen Hilfsmitteln nicht endgiltig festzustellen.